

DIE INTRINSISCHE KÖRPERLICHE  
LEISTUNGSFÄHIGKEIT BEEINFLUSST  
DIE WIRKUNG VON AUSDAUERTRAINING  
AUF DIE INSULINEMPFINDLICHKEIT

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Annika Molis

geboren am 19. Juli 1987 in Sondershausen

Gutachter:

1. **Prof. Dr. med. Torsten Doenst**  
Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie, Universitätsklinikum Jena
2. **PD Dr. rer. med. habil. Nora Klötting**  
Integriertes Forschungs- und Behandlungszentrum (IFB), Universität Leipzig
3. **PD Dr. med. Michel Noutsias**  
Klinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.01.2016

## Abkürzungsverzeichnis

AIT	Aerobic interval training (aerobes Intervalltraining)
Bidest	Zweifach destilliertes Wasser
BZ	Blutzucker
CME	Continuous moderate-intensity exercise (kontinuierliches moderates Training)
Echo	Transthorakale Echokardiographie
ECL	Elektrochemilumineszenz
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EF	Ejection fraction (Ejektionsfraktion)
E/A	E-Welle zu A-Welle
E/E'	E-Welle zu E'-Welle
FS	Fractional shortening (Verkürzungsfraktion)
g	Gramm
<i>g</i>	Mittlere Erdbeschleunigung
g/cm <sup>2</sup>	Gramm pro Quadratzentimeter
g/kg	Gramm pro Kilogramm
g/l	Gramm pro Liter
GU	Ganzkörperglukoseumsatz
h	Stunde
HCR	High capacity runners
HCR-K	HCR-Kontrolle
HCR-T	HCR-Training
HDL	High density lipoprotein (Lipoprotein hoher Dichte)
HEK	Hyperinsulinäme, euglykämie Klemme
HF	Herzfrequenz
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HW/BW	Heart weight to body weight (Herz- zu Körpergewicht)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
KG	Körpergewicht
KG/Tibia-Index	Körpergewicht zu [Tibiallänge] <sup>2</sup>
l	Liter
IE/ml	Internationale Einheit pro Milliliter

LCR	Low capacity runners
LCR-K	LCR-Kontrolle
LCR-T	LCR-Training
LVEDD	Leftventricular enddiastolic diameter (linksventrikulärer enddiastolischer Innendurchmesser)
LVPWD	Leftventricular posterior wall dimension (linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke)
m	Meter
M	Molare Masse
M.	Musculus
mA	Milliampere
mg	Milligramm
mg/g	Milligramm pro Gramm
mg/kg KG	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht
mg/kg/min	Milligramm pro Kilogramm pro Minute
mg/ml	Milligramm pro Milliliter
min	Minute
ml	Milliliter
ml/h	Milliliter pro Stunde
mm	Millimeter
Mm.	Musculi
MMF	Medetomidin-Midazolam-Fentanyl
m/min	Meter pro Minute
M-Mode	Motion-Mode
mmol/l	Millimol pro Liter
MW	Mittelwert
µg	Mikrogramm
µg/µl	Mikrogramm pro Mikroliter
µl	Mikroliter
n	Stichprobenumfang
NaCl	Natriumchlorid
NaF	Natriumfluorid
Na <sub>3</sub> VO <sub>4</sub>	Natriumorthovanadat
Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Tetranatriumdiphosphat

nm	Nanometer
n.s.	Nicht signifikant
p	p-Wert, Signifikanzwert
P-Akt	Phospho-Akt
PVDF	Polyvinylidenfluorid
Reg.-Nr.	Registriernummer
rpm	Revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
SDS	Sodium dodecyl sulphate (Natriumlaurylsulfat)
SEM	Standard error of the mean (Standardfehler)
Tab.	Tabelle
TBS-T	Tris buffered saline + Tween 20 (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan + Natriumchlorid + Tween 20)
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Tris-HCl	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan-Chlorwasserstoff
vgl.	Vergleiche
1/min	1 pro Minute
2DG	[ <sup>14</sup> C]2-Deoxyglukose
3HG	3-[ <sup>3</sup> H]-Glukose
<sup>14</sup> C	Isotop des Kohlenstoffs
<sup>3</sup> H	Isotop des Wasserstoffs, Tritium

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>3</b>
2.1	Risikofaktor „Insulinresistenz“ .....	4
2.2	Risikofaktor „geringe körperliche Leistungsfähigkeit“ .....	6
2.3	Generierung des HCR/LCR-Rattenmodells .....	7
2.4	Metabolische Eigenschaften von HCR und LCR .....	8
2.5	Einfluss von Ausdauertraining auf HCR und LCR .....	10
<b>3</b>	<b>Ziele der Arbeit.....</b>	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>Methodik .....</b>	<b>13</b>
4.1	Tiere und Tierhaltung .....	13
4.2	Chemikalien.....	13
4.3	Pharmazeutische Wirkstoffe .....	14
4.4	Geräte .....	15
4.5	Studiendesign.....	15
4.6	Transthorakale Echokardiographie.....	16
4.7	Test auf die intrinsische Laufkapazität.....	17
4.8	Aerobes Intervalltraining .....	18
4.9	Hyperinsulinäme, euglykämie Klemme .....	19
4.10	Western Blot.....	24
4.11	Statistik und Datenverarbeitung .....	26
<b>5</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>27</b>
5.1	Charakteristika von HCR und LCR der 28. Generation .....	27
5.1.1	Intrinsische Laufkapazität.....	27
5.1.2	Körpergewicht, Tibialänge und absolute Organgewichte .....	28
5.1.3	Relative Organgewichte .....	29
5.1.4	Kardiale Morphologie und Funktion .....	30

5.1.5	Glukosestoffwechsel .....	31
5.2	Einfluss von Ausdauertraining auf HCR und LCR der 28. Generation.....	35
5.2.1	Laufgeschwindigkeit.....	35
5.2.2	Körpergewicht .....	36
5.2.3	Absolute und relative Organgewichte .....	37
5.2.4	Kardiale Morphologie und Funktion .....	42
5.2.5	Glukosestoffwechsel .....	44
5.2.6	Proteinkinase B/Akt von Herz, Mm. gastrocnemii und Hodenfett.....	50
<b>6</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>Schlussfolgerungen.....</b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>Literatur- und Quellenverzeichnis .....</b>	<b>65</b>
<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>72</b>
9.1	Lebenslauf.....	72
9.2	Veröffentlichungen.....	73
9.3	Danksagung .....	74
9.4	Ehrenwörtliche Erklärung .....	75

# 1 Zusammenfassung

## *Hintergrund*

Insulinresistenz und eine geringe körperliche Leistungsfähigkeit sind entscheidende Risikofaktoren für metabolische und kardiovaskuläre Erkrankungen. Zwischen der Insulinempfindlichkeit und der körperlichen Leistungsfähigkeit eines Menschen besteht eine signifikante Korrelation. Zudem ist eine Verbesserung beider Faktoren durch Ausdauertraining nachgewiesen.

Die körperliche Leistungsfähigkeit wird durch eine intrinsische (genetische) und eine extrinsische (umweltbedingte) Komponente bestimmt. Ob die genetische Komponente der körperlichen Leistungsfähigkeit die Wirkung von Ausdauertraining auf die Insulinempfindlichkeit von selektiv gezüchteten Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit beeinflusst, wurde bisher nicht untersucht und war Gegenstand des dieser Arbeit zugrundeliegenden Forschungsprojektes.

## *Methoden*

Männliche HCR und LCR Ratten der 28. Generation wurden jeweils in eine Kontroll- und in eine Trainingsgruppe randomisiert. Über einen Zeitraum von 4 Wochen durchliefen die Trainingsgruppen ein standardisiertes aerobes Intervalltraining mit hoher Intensität. Mit Hilfe der Echokardiographie wurde die kardiale Morphologie und Funktion aller Tiere bestimmt. Zur Analyse des basalen und insulinstimulierten Glukosestoffwechsels sowohl von untrainierten als auch von trainierten HCR und LCR setzten wir die hyperinsulinäme, euglykämie Klemme ein. Die Proteinkinase B/Akt, ein wichtiges Enzym der Insulinsignalkaskade, wurde im Herz, in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett von untrainierten und trainierten HCR und LCR im Western Blot untersucht.

## *Ergebnisse*

LCR Ratten zeigten im Vergleich zu HCR eine verminderte intrinsische Laufkapazität, ein deutlich höheres Körpergewicht und eine längere Tibia. LCR hatten zudem ein höheres absolutes Gewicht der Leber, der Mm. gastrocnemii, der Mm. solei und des Hodenfetts. Echokardiographisch zeigten sie eine leichte Linksherzhypertrophie. LCR fielen durch einen diabetischen Phänotyp mit einem höheren Spontan- und Nüchternblutzuckerspiegel im Vergleich zu HCR auf.



Der basale Ganzkörperglukoseumsatz und die hepatische Glukoseproduktion zeigten keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Unter Insulinstimulation waren die Glukoseinfusionsrate, der Ganzkörperglukoseumsatz und die Glykolyserate bei LCR geringer als bei HCR. Im Gegensatz dazu zeigte die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme von einzelnen Organen und Geweben keine Unterschiede zwischen HCR und LCR.

Das aerobe Intervalltraining führte sowohl bei HCR als auch bei LCR zu einer Körpergewichts- und Hodenfettreduktion, die jedoch bei HCR deutlich stärker ausgeprägt war. Die leichte Linksherzhypertrophie von LCR wurde reduziert. Das Ausdauertraining hatte keinen Einfluss auf den erhöhten Spontan- und Nüchternblutzuckerspiegel von LCR. Bei beiden Gruppen blieben die insulinstimulierte Glukoseinfusionsrate, der Ganzkörperglukoseumsatz und die Glykolyserate durch das körperliche Training unverändert. Nur bei HCR kam es zu einer Steigerung der insulinstimulierten [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett.

### *Schlussfolgerung*

HCR und LCR unterscheiden sich in den phänotypischen Merkmalen: intrinsische Laufkapazität, Körper- und Organgewichte, kardiale Morphologie und Funktion sowie im Glukosestoffwechsel. LCR sind im Vergleich zu HCR durch eine verminderte systemische Insulinempfindlichkeit gekennzeichnet. Das aerobe Intervalltraining verbesserte die Insulinempfindlichkeit von HCR, jedoch nicht von LCR. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass genetisch bedingte Unterschiede in der körperlichen Leistungsfähigkeit die Wirkung von Ausdauertraining auf die Insulinempfindlichkeit beeinflussen.

## 2 Einleitung

Insulinresistenz und eine geringe körperliche Leistungsfähigkeit sind entscheidende Risikofaktoren für metabolische und kardiovaskuläre Erkrankungen (DeFronzo und Ferrannini 1991, Kodama et al. 2009). Zwischen der Insulinempfindlichkeit und der körperlichen Leistungsfähigkeit eines Menschen besteht eine signifikante Korrelation. Zudem ist eine Verbesserung beider Faktoren durch Ausdauertraining nachgewiesen (Rosenthal et al. 1983, Kirwan et al. 2009, Hawley und Holloszy 2009). Das Ansprechen auf ein körperliches Training ist jedoch individuell unterschiedlich (Lortie et al. 1984, Bouchard und Rankinen 2001).

Der Phänotyp für die körperliche Leistungsfähigkeit wird durch eine intrinsische (genetische) und durch eine extrinsische (umweltbedingte) Komponente bestimmt (Henderson et al. 2002, Koch und Britton 2008). Im Menschen kann der Einfluss dieser beiden Faktoren auf die Insulinempfindlichkeit nicht separat untersucht werden, da der jeweilige Anteil unbekannt ist und Umwelteinflüsse individuell unterschiedlich und nicht ausreichend kontrollierbar sind. Es ist jedoch von großem klinischen Interesse, ob ein Ausdauertraining einen vergleichbaren Effekt auf die Insulinempfindlichkeit von Menschen mit unterschiedlicher intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit hat. Wird die Wirkung eines Ausdauertrainings auf die Insulinempfindlichkeit durch die genetische Komponente der körperlichen Leistungsfähigkeit beeinflusst?

Das Rattenmodell mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit ermöglicht es, die genetische Komponente der körperlichen Leistungsfähigkeit isoliert zu betrachten und auch deren Einfluss auf die Wirkung einer extrinsischen Komponente (Ausdauertraining) zu untersuchen. Dieses Tiermodell eignet sich in diesem Zusammenhang besonders gut, da LCR Merkmale des metabolischen Syndroms zeigen und im Vergleich zu HCR durch eine reduzierte systemische Insulinempfindlichkeit und eine reduzierte Lebenserwartung gekennzeichnet sind (Wisløff et al. 2005, Koch et al. 2012).

Für die vorliegende Arbeit wurden wichtige phänotypische Merkmale von Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit untersucht sowie die Wirkung eines vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf diese

Merkmale. Das besondere Augenmerk lag auf der systemischen und organspezifischen Insulinempfindlichkeit von HCR und LCR.

Zum besseren Verständnis der theoretischen Grundlagen dieser Arbeit werden in den folgenden zwei Abschnitten die metabolischen und kardiovaskulären Risikofaktoren „Insulinresistenz“ und „geringe körperliche Leistungsfähigkeit“ genauer erläutert.

## **2.1 Risikofaktor „Insulinresistenz“**

Die Insulinresistenz ist definiert als eine verminderte Empfindlichkeit von peripheren Zielgeweben wie Skelettmuskulatur, Leber und Fettgewebe gegenüber dem Peptidhormon Insulin (DeFronzo und Tripathy 2009). Daraus resultiert eine Verminderung der Insulinwirkung. Um dennoch die Glukosetoleranz aufrechtzuerhalten, steigern die  $\beta$ -Zellen des Pankreas kompensatorisch die Insulinsekretion (Petersen und Shulman 2002). Das gemeinsame Vorliegen von Insulinresistenz und Hyperinsulinämie führt zu zahlreichen metabolischen und kardiovaskulären Veränderungen. Ist es nicht mehr möglich, die verminderte Insulinempfindlichkeit peripherer Zielgewebe durch die gesteigerte Insulinsekretion zu kompensieren, stellt sich das Stadium einer beeinträchtigten Glukosetoleranz mit Hyperglykämie ein (Kashyap und DeFronzo 2007). Die Insulinresistenz ist somit ein Schlüsselement in der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2. Ätiologisch scheinen primäre (genetische) und sekundäre (metabolische) Faktoren eine Rolle zu spielen (Bak et al. 1992) (Abb. 1). Die zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen sind bisher nicht im Detail geklärt. Eine Beeinträchtigung der Insulinsignalkaskade und intrazellulärer Postrezeptordefekte, wie ein gestörter Glukosetransport, eine gestörte Glukosephosphorylierung, -oxidation und eine gestörte Glykogensynthese werden dafür verantwortlich gemacht (Abdul-Ghani und DeFronzo 2010).

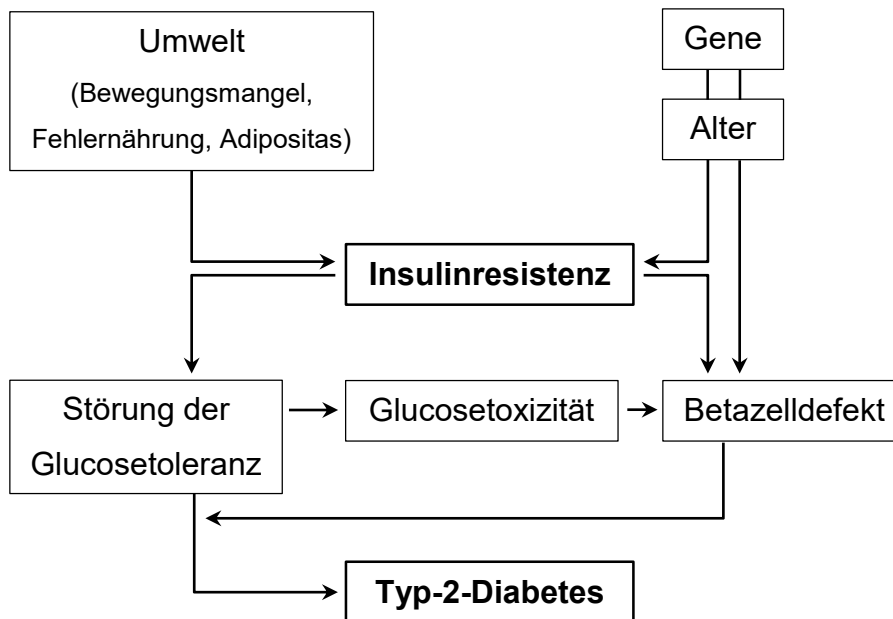


Abbildung 1: Pathogenese des Typ-2-Diabetes; (modifiziert nach Siegenthaler und Blum 2006).

Menschen, die an einem Diabetes mellitus Typ 2 erkrankt sind, zeigen eine geringere körperliche Leistungsfähigkeit, gemessen anhand der maximalen Sauerstoffaufnahme ( $VO_2$  max), im Vergleich zu einer gesunden, gleichaltrigen Kontrollgruppe (Regensteiner et al. 1995). Wie zu Beginn kurz beschrieben, besteht zwischen der Insulinempfindlichkeit und der körperlichen Leistungsfähigkeit eines Menschen eine signifikante Korrelation. Ein Anstieg der  $VO_2$  max geht mit einem Anstieg der Insulinempfindlichkeit einher. Diese Beziehung ist unabhängig von Alter, Geschlecht und Körpergewicht und scheint für mehr als 40 % der interindividuellen Unterschiede in der Insulinempfindlichkeit von gesunden, normalgewichtigen Menschen verantwortlich zu sein (Rosenthal et al. 1983). Rosenthal et al. schlussfolgerten, dass der Grad der körperlichen Leistungsfähigkeit einen regulatorischen Einfluss auf die Insulinempfindlichkeit hat. Dementsprechend belegen zahlreiche andere Studien, dass die Insulinempfindlichkeit sowohl bei Gesunden als auch bei Menschen mit Diabetes mellitus Typ 2 durch körperliches Training verbessert werden kann (Dela et al. 1992, Kirwan et al. 2009).

Bei der gezielten Betrachtung von anderen Parametern wie  $VO_2$  max, Herzfrequenz, HDL und systolischem Blutdruck wurden jedoch individuelle Unterschiede im

Ansprechen auf ein körperliches Training nachgewiesen. Hierfür scheint ein bedeutender Einflussfaktor der Ausgangszustand der körperlichen Leistungsfähigkeit zu sein. Weitere Einflussfaktoren wie das Alter, das Geschlecht und die ethnische Herkunft spielen dagegen nur eine untergeordnete Rolle (Bouchard und Rankinen 2001).

## **2.2 Risikofaktor „geringe körperliche Leistungsfähigkeit“**

Die körperliche Leistungsfähigkeit ist für diese Arbeit zentral, da sie wichtige Informationen über den Gesundheitszustand eines Menschen liefert. Epidemiologische Studien wiesen bei gesunden oder asymptomatischen Menschen eine inverse Beziehung zwischen der körperlichen Leistungsfähigkeit und der Gesamtmortalität nach (Kodama et al. 2009). Gemäß der aktuellen Studienlage ist die körperliche Leistungsfähigkeit von Menschen mit und ohne kardiovaskulären Erkrankungen sowie von Menschen mit Diabetes mellitus Typ 2 ein besserer Indikator für die Gesamtmortalität als andere etablierte kardiovaskuläre Risikofaktoren (Myers et al. 2002, Kokkinos et al. 2008, Kokkinos et al. 2009).

Wie zu Beginn kurz beschrieben ist die körperliche Leistungsfähigkeit eine komplexe Eigenschaft von Mensch und Tier, die durch das Zusammenspiel von intrinsischen (genetischen) und extrinsischen (umweltbedingten) Faktoren bestimmt wird (Henderson et al. 2002, Koch und Britton 2008). Zu den intrinsischen Faktoren gehören Gene, die sich in zwei Gruppen einteilen lassen: Zum einen solche Gene, die die Ausprägung der intrinsischen körperlichen Leistungsfähigkeit bestimmen, und zum anderen Gene, die die Ansprechbarkeit auf Umweltfaktoren wie ein Ausdauertraining beeinflussen (Bouchard et al. 1986, Bouchard et al. 1999). Bouchard et al. belegen anhand von Regressionsanalysen, dass das Maß für die Erbllichkeit der maximalen Sauerstoffaufnahme ( $\text{VO}_2 \text{ max}$ ) und daraus folgend der körperlichen Leistungsfähigkeit bei mindestens 50 % liegt. Unklar ist, inwieweit dieser Wert durch nicht-genetische, umweltbedingte Faktoren ggf. verfälscht wurde (Bouchard et al. 1998). Welchen genauen Beitrag die intrinsische und die extrinsische Komponente in Bezug auf die körperliche Leistungsfähigkeit einzeln leisten, ist demzufolge unbekannt. Aus diesem Grund sind Tiermodelle, wie das HCR/LCR-Rattenmodell, bei denen sowohl der genetische Hintergrund als auch die

bestehenden Umwelteinflüsse bekannt sind und kontrolliert werden können, von großem wissenschaftlichen Interesse.

### **2.3 Generierung des HCR/LCR-Rattenmodells**

Das für die vorliegende Arbeit verwendete Rattenmodell mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit wurde im „Department of Physical Medicine and Rehabilitation“, University of Michigan (Ann Arbor, Michigan, USA) generiert und freundlicherweise für das vorliegende Projekt zur Verfügung gestellt. Das Rattenmodell leitet sich von einem genetisch heterogenen N:NIH (National Institutes of Health) Stamm ab. Ausgehend von einer Grundpopulation aus 80 männlichen und 88 weiblichen N:NIH Ratten wurden die Nachkommen auf eine hohe (HCR) und eine niedrige (LCR) intrinsische Laufkapazität über mehrere Generationen selektiv gezüchtet (Koch und Britton 2001).

Hierfür wurden die Ratten der Grundpopulation im Alter von 11 Wochen an 5 aufeinanderfolgenden Tagen auf einem Laufband auf ihre maximale Laufstrecke getestet. Das Laufband hatte eine Steigung von 15°. Die Laufgeschwindigkeit wurde mit 10 m/min gestartet und alle 2 Minuten um 1 m/min gesteigert. Der Test wurde bis zur Erschöpfung der Ratten, die genau definiert wurde, durchgeführt. Die Grundpopulation erzielte eine maximale Laufstrecke von  $355 \pm 11$  m. Jeweils 13 männliche und weibliche Ratten, die die längste Laufstrecke innerhalb der 5 Testtage erreichten, wurden verpaart und für die Züchtung der ersten Generation von HCR genutzt. Jeweils 13 männliche und weibliche Ratten, die die kürzeste Laufstrecke erreichten, wurden ebenso verpaart und für die Züchtung der ersten Generation von LCR genutzt. Auf diese Weise wurden 13 HCR und 13 LCR Familien gegründet. Mit jeder neuen Generation wurde das beschriebene Prozedere durchgeführt. Nach einem festgelegten Schema wurden nur Ratten aus unterschiedlichen Familien verpaart. Der Inzuchtanteil lag somit bei weniger als 1% pro Generation und eine große genetische Heterogenität blieb erhalten (Koch und Britton 2001).

Pro Generation war bei HCR ein Anstieg der intrinsischen Laufkapazität von durchschnittlich 41,8 m und bei LCR eine Abnahme von durchschnittlich 16,1 m zu beobachten. Bereits die 11. Generation von HCR und LCR zeigte deutliche Unterschiede in der maximalen intrinsischen Laufkapazität. HCR erzielten eine maximale Laufstrecke von  $853 \pm 315$  m und LCR von  $191 \pm 70$  m (Abb. 2) (Britton und Koch 2005).

Die vorliegenden phänotypischen Unterschiede zwischen HCR und LCR sind Ausdruck der Unterschiede im Genotyp. Das Einwirken von unterschiedlichen Umwelteinflüssen auf den Phänotyp wurde aufgrund von standardisierten Umweltbedingungen minimiert, das heißt für HCR und LCR galten vergleichbare Umwelteinflüsse.

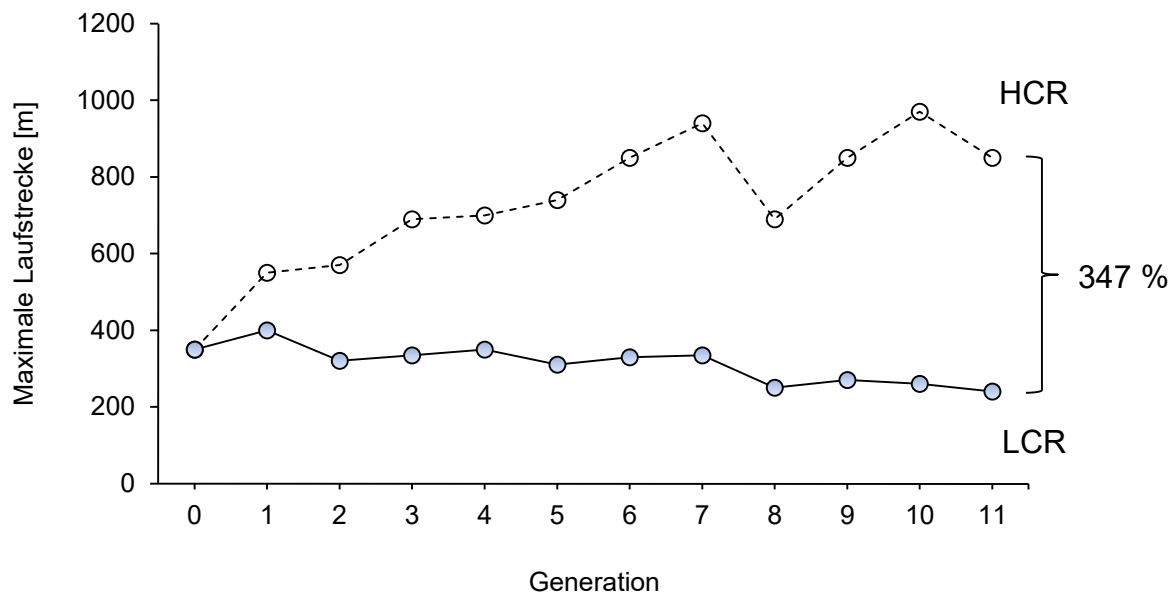


Abbildung 2: Entwicklung der maximalen Laufstrecke von HCR und LCR bis zur Generation 11; (HCR) - high capacity runners; (LCR) - low capacity runners; (modifiziert nach Britton und Koch 2005).

## 2.4 Metabolische Eigenschaften von HCR und LCR

Die selektive Züchtung von Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer Laufkapazität führt nicht nur zu Unterschieden in der körperlichen Leistungsfähigkeit der Tiere. HCR sind im Vergleich zu LCR außerdem durch einen athletischen Phänotyp mit einer höheren körperlichen Spontanaktivität und einem höheren Energieumsatz gekennzeichnet (Novak et al. 2010). Dagegen zeigen LCR einen diabetischen Phänotyp mit einem erhöhten Risiko für metabolische und kardiovaskuläre Erkrankungen (Wisløff et al. 2005). Das metabolische Syndrom ist hierfür ein bedeutender Risikofaktor. Es tritt mit den Kriterien viszerale Adipositas, Hyperglykämie, Hypertriglyceridämie und arterielle Hypertonie mit Endotheldysfunktion bei LCR auf (Wisløff et al. 2005, Noland et al. 2007). Zudem zeigen LCR im Vergleich zu HCR eine reduzierte systemische Insulinempfindlichkeit

mit Hyperinsulinämie und eine eingeschränkte Glukosetoleranz (Noland et al. 2007, Morris et al. 2009). Eine eingeschränkte hepatische Insulin-Clearance scheint die Ursache für die Hyperinsulinämie zu sein (Bowman et al. 2010, Wisløff et al. 2005).

Insgesamt sind HCR im Vergleich zu LCR durch bessere metabolische Eigenschaften gekennzeichnet. Dazu gehört vor allem eine höhere Kapazität zur Aufnahme und Oxidation von Glukose und Fettsäuren (Lessard et al. 2011, Rivas et al. 2011). Sogar im Rahmen einer fettreichen Ernährung entwickelten HCR keine Insulinresistenz (Bikman et al. 2009). Im Gegensatz dazu kam es bei LCR durch eine fettreiche Ernährung zu einer exzessiven Gewichtszunahme und einer Verschlechterung der systemischen Insulinempfindlichkeit (Noland et al. 2007). Von einer kalorienarmen Ernährung konnten jedoch auch LCR profitieren. Neben einer Reduktion des Körpergewichts und der viszeralen Adipositas wurde bei LCR durch die Kalorienrestriktion auch eine Verbesserung des Lipidmetabolismus, der Glukose- und Insulintoleranz sowie der hepatischen Insulin-Clearance nachgewiesen (Bowman et al. 2010).

Bei genauerer Betrachtung von wichtigen Stoffwechselgeweben, wie der Skelettmuskulatur, zeigen LCR eine Dysregulation des Glukose- und Lipidmetabolismus (Lessard et al. 2009, Rivas et al. 2011). Auch andere Organe, wie die Leber und das Herz sind von einem gestörten Lipidmetabolismus betroffen (Wisløff et al. 2005, Thyfault et al. 2009). Bei LCR ist zudem der aerobe Stoffwechsel der Skelettmuskulatur durch einen verminderten Gehalt an Proteinen, die für die mitochondriale Biogenese und Funktion von Bedeutung sind, beeinträchtigt (Wisløff et al. 2005). Eine mitochondriale Dysfunktion steht in Verbindung mit metabolischen und kardiovaskulären Erkrankungen (Hernández-Aguilera et al. 2013). Überlebenskurven zeigen, dass HCR im Vergleich zu LCR circa 6 bis 8 Monate länger leben und somit durch eine höhere Lebenserwartung gekennzeichnet sind (Abb. 3) (Koch et al. 2012).



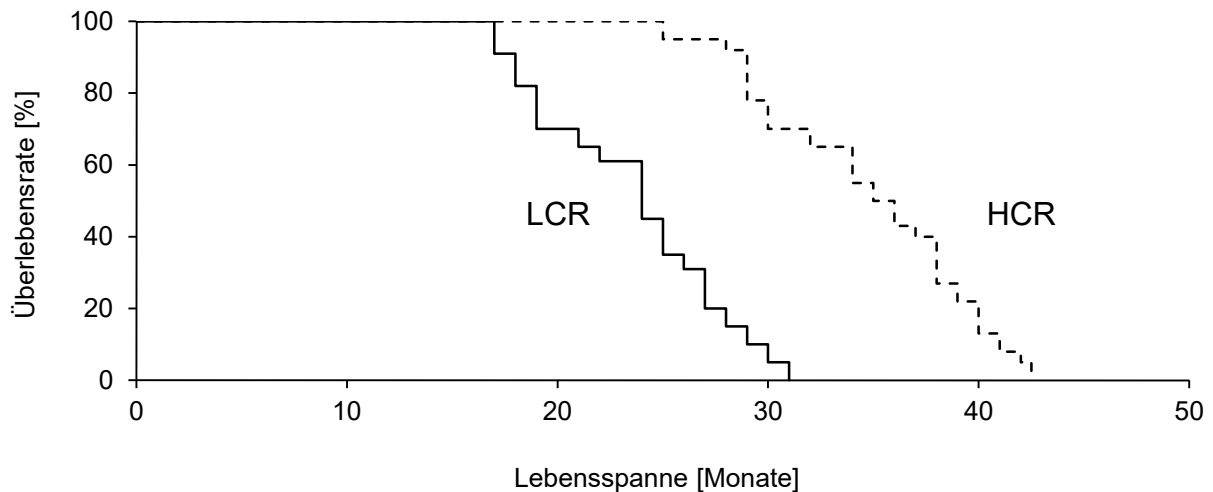


Abbildung 3: Überlebenskurven von männlichen und weiblichen HCR ( $n = 23$ ) und LCR ( $n = 23$ ) der 14. Generation aus Trondheim, Norwegen; (modifiziert nach Koch et al. 2011).

## 2.5 Einfluss von Ausdauertraining auf HCR und LCR

In den vergangenen Jahren wurden einige Forschungsprojekte durchgeführt, die den Einfluss von Ausdauertraining auf metabolische Eigenschaften von HCR und LCR untersuchten. Grundlegend charakteristisch ist, dass HCR im Vergleich zu LCR eine höhere maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_2 \text{ max}$ ) und daraus schlussfolgernd eine höhere körperliche Leistungsfähigkeit zeigen. Dieses Ergebnis wurde am ehesten mit einem höheren Sauerstofftransfer aus dem Blut in das Gewebe bei HCR in Verbindung gebracht (Henderson et al. 2002). Eine Steigerung der  $VO_2 \text{ max}$  konnten beide Gruppen durch ein 8-wöchiges aerobes Intervalltraining mit hoher Intensität erreichen (Høydal et al. 2007a). Zudem beschreiben Bowman et al., dass ein 8-wöchiges aerobes Intervalltraining mit hoher Intensität bei LCR zu einer Reduktion des Körpergewichts, des viszeralen Fettgewebes und der Hypertriglyceridämie im Serum und in der Leber führte. Im Gegensatz dazu zeigte sich keine Verbesserung der Hyperinsulinämie und der eingeschränkten Insulin-Clearance (Bowman et al. 2010). Jedoch wurde in der Studie von Stephenson et al. bei LCR eine Reduktion des Blutzucker- und Insulinspiegels durch ein 6-wöchiges kontinuierliches Training erzielt (Stephenson et al. 2013). Ein entscheidender Einflussfaktor scheint demzufolge die Trainingsform und -intensität zu sein. Ein aerobes Intervalltraining (AIT) mit hoher Intensität, durchgeführt von Haram et al., hatte bei LCR einen größeren positiven Effekt auf die  $VO_2 \text{ max}$  und auf kardiovaskuläre Risikofaktoren

wie arterielle Hypertonie, Endotheldysfunktion und vermindertes HDL als ein Training mit kontinuierlich moderater Intensität (CME). Zudem führte das AIT im Vergleich zum CME zu einer stärkeren Erhöhung des Phosphorylierungsstatus des Insulinrezeptors im retroperitonealen Fettgewebe von LCR. Im M. soleus hatten beide Trainingsformen keinen Einfluss auf diesen Parameter. Die Reduktion des Nüchternblutzuckerspiegels und die Verbesserung der Glukosetoleranz erfolgte durch AIT und CME bei LCR in einem vergleichbaren Ausmaß (Haram et al. 2009).

Nach einem 6-wöchigen kontinuierlichen Training wurde bei LCR bei genauerer Betrachtung von wichtigen Stoffwechselgeweben, wie der Skelettmuskulatur, eine Verbesserung des Glukose- und Lipidstoffwechsels nachgewiesen. Bei HCR führte das entsprechende Training zu keinen signifikanten Veränderungen (Lessard et al. 2011). Die genannten Arbeiten liefern deutliche Hinweise dafür, dass eine genetisch bedingte Beeinträchtigung des Stoffwechsels bei Ratten mit niedriger intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit durch Ausdauertraining verbessert werden kann.

Sowohl für Ratten als auch für Menschen ist die Verminderung einer bestehenden Insulinresistenz durch Ausdauertraining nachgewiesen (Lessard et al. 2007, Kirwan et al. 2009). Unklar ist bisher, welchen Einfluss Ausdauertraining auf die Insulinempfindlichkeit einzelner Organe und Gewebe hat. Zudem ist fraglich, ob der Effekt eines körperlichen Trainings auf die systemische und organspezifische Insulinempfindlichkeit von Individuen mit unterschiedlicher intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit vergleichbar ist.

### **3 Ziele der Arbeit**

In der vorliegenden Arbeit sollten vier Hypothesen überprüft werden:

1. Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit unterscheiden sich in den phänotypischen Merkmalen: Körper- und Organgewichte, Tibialänge, kardiale Morphologie und Funktion sowie im Glukosestoffwechsel.
2. LCR sind im Vergleich zu HCR durch eine verminderte systemische und organspezifische Insulinempfindlichkeit gekennzeichnet.
3. Ein vierwöchiges aerobes Intervalltraining hat einen unterschiedlichen Einfluss auf die oben genannten phänotypischen Merkmale von HCR und LCR.
4. Ein vierwöchiges aerobes Intervalltraining verbessert die systemische und die organspezifische Insulinempfindlichkeit von HCR und LCR.

## 4 Methodik

### 4.1 Tiere und Tierhaltung

Für die Experimente wurden 20 männliche HCR und 20 männliche LCR Ratten der 28. Generation verwendet, die uns durch unsere Kooperationspartner L.G. Koch und S.L. Britton aus Ann Arbor (Michigan, USA) freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden. Es handelt sich um Laborratten mit einem Inzuchtanteil kleiner als 1 %. Die Ratten wurden bei freiem Zugang zu Fertigfutter und Wasser in Standardkäfigen gehalten. Der Lichtzyklus umfasste 12 Stunden Tag und 12 Stunden Nacht bei einer konstanten Raumtemperatur von 21°C. Die Tierexperimente wurden mit der Bewilligung durch das Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz unter der Reg.-Nr. 02-055/10 in den Laboratorien der Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Jena durchgeführt.

### 4.2 Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien stammen von den Firmen AppliChem (Darmstadt, Deutschland), Bio-Rad (München, Deutschland), Roche (Grenzach-Wyhlen, Deutschland), Roth (Karlsruhe, Deutschland), Serva (Heidelberg, Deutschland) und Sigma-Aldrich (Deisenhofen, Deutschland) oder wurden aus ihnen hergestellt.

Für die Durchführung des Western Blots wurden folgende Lösungen und Chemikalien verwendet:

- Bidest entspricht zweifach destilliertem Wasser
- Coomassie-Lösung bestehend aus: 25 ml Isopropanol (99,7 %), 10 ml Essigsäure (100 %), 50 mg Coomassie, mit Bidest auf 100 ml aufgefüllt
- Dreifach-Lämmli-Puffer bestehend aus: 2,1 g Dithiothreitol (DTT), 111,67 mg EDTA, 363,4 mg Tris-HCl, 10 g SDS, 40 ml Glycerol, 2 ml Bromphenolblau (1 %), 30 ml Bidest
- ECL-Lösung A bestehend aus: 17,7 ml Bidest, 2 ml 1 M Tris (pH 8,5), 200 µl 250 mM Luminol in Dimethylsulfoxid (DMSO) (99,9 %), 88 µl 90 mM Kumarinsäure in DMSO
- ECL-Lösung B bestehend aus: 18 ml Bidest, 2 ml 1 M Tris (pH 8,5), 12 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %)

- Naphtol-Blue-Black-Lösung bestehend aus: 200 mg Naphtol blue black, 10 ml Essigsäure (100 %), 90 ml Methanol (> 99,9 %), mit Bidest auf 200 ml aufgefüllt
- Proben-Puffer bestehend aus: 6,95 ml Bidest, 200 µl 1 M Tris-HCl (pH 7,5), 245 µl 2 M NaCl, 1000 µl 0,5 M NaF, 600 µl 0,25 M Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 1000 µl Triton-X 100 (10 %), 44 µl Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF) (10 g/l), 200 µl 0,1 M Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1 Pim-Tablette (Complete mini)
- Runningpuffer bestehend aus: 14,4 g Glycin, 5 ml 20 %ige SDS-Lösung, 3 g Tris, mit Bidest auf 1 l aufgefüllt
- Sammelgelpuffer B bestehend aus: 242 ml 2 M Tris-HCl, 8 ml 2 M Tris, 20 ml 20 %ige SDS-Lösung, mit Bidest auf 1 l aufgefüllt und autoklaviert
- Strippingpuffer bestehend aus: 37,54 g 1 M Glycin mit HCl auf pH 1,8 eingestellt, mit Bidest auf 500 ml aufgefüllt
- TBS-T bestehend aus: 8,76 g NaCl, 6,05 g Tris, auf pH 8,0 eingestellt, mit Bidest und 1 ml Tween 20 auf 1 l aufgefüllt
- Transferpuffer bestehend aus: 3 g Tris, 1 ml 20 %ige SDS-Lösung, 14,1 g Glycin, 200 ml Methanol, mit Bidest auf 1 l aufgefüllt
- Trenngelpuffer A bestehend aus: 180 ml 2 M Tris-HCl, 570 ml 2 M Tris, 20 ml 20 %ige SDS-Lösung, auf pH 8,8 eingestellt, mit Bidest auf 1 l aufgefüllt und autoklaviert

### 4.3 Pharmazeutische Wirkstoffe

Für die Durchführung der hyperinsulinämen, euglylämen Klemme wurden folgende Wirkstoffe verwendet:

- Glukose: Glucose 40 %, B. Braun (Melsungen, Deutschland)
- 3-[<sup>3</sup>H]-Glukose: PerkinElmer (Rodgau, Deutschland)
- [<sup>14</sup>C]2-Deoxyglukose: PerkinElmer (Rodgau, Deutschland)
- Insulin: Insuman Rapid, 100 IE/ml, Sanofi-Aventis (Frankfurt, Deutschland)
- Medetomidin: Domitor, 1 mg/ml, Orion Pharma (Hamburg, Deutschland)
- Midazolam: 15 mg/3ml, Ratiopharm (Ulm, Deutschland)
- Fentanyl: 0,5 mg/5ml, Hikma Pharma (Klein-Winternheim, Deutschland)

## 4.4 Geräte

Für die Durchführung des Western Blots kamen folgende Geräte zum Einsatz:

- Elektrophoresekammer: Mini-Protean 3 Cell, Bio-Rad (München, Deutschland)
- Fluoreszenzmessgerät: Synergy 2 Multi-Detektions-Reader, BioTek (Bad Friedrichshall, Deutschland)
- Image-Analyzer: Image Reader LAS-3000, Fujifilm (Düsseldorf, Deutschland)
- Netzgerät: PowerPac Basic, Power Supply, Bio-Rad (München, Deutschland)
- Plattformschüttler: Rotomax 120, Heidolph (Schwabach, Deutschland)
- Rührgerät: RE 16, IKA-Werke (Staufen, Deutschland) mit Teflon-Pistill
- Western-Blot-Apparaturen: Trans-Blot SD Semi-Dry Transfer Cell, Bio-Rad (München, Deutschland)
- Zentrifuge: 5810R, Eppendorf (Hamburg, Deutschland)

Für die Durchführung der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme wurden folgende Geräte genutzt:

- Blutzuckermessgerät: FreeStyle Lite, Abbott (Wiesbaden, Deutschland)
- Dispergiergerät: Ultra-Turrax T8, IKA-Werke (Staufen, Deutschland)
- Perfusoren: Syringe Pump SP 10012, WPI (Berlin, Deutschland)
- Szintillationszähler: LS 6500 Multipurpose Scintillation Counter, Beckmann Coulter (Krefeld, Deutschland)
- Tischzentrifuge: 5415D, Eppendorf (Hamburg, Deutschland)
- Zentrifuge: 5804R, Eppendorf (Hamburg, Deutschland)

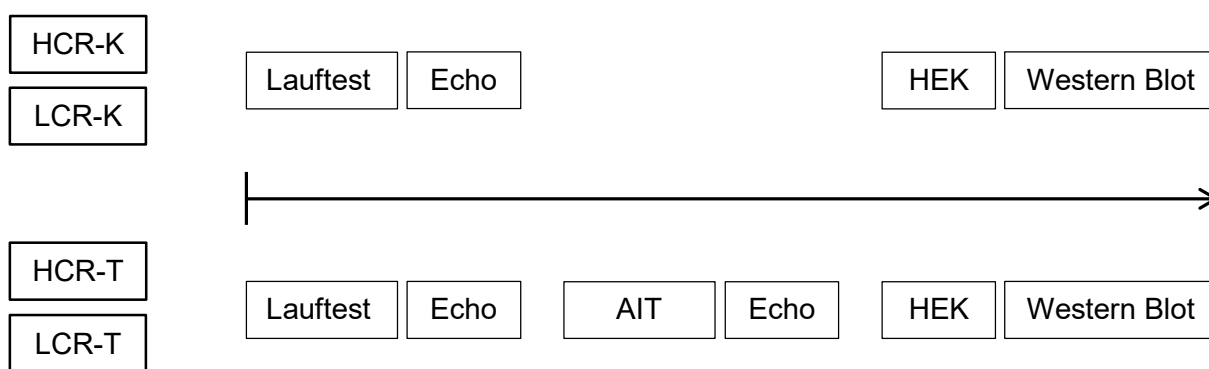
Folgende Geräte kamen außerdem zum Einsatz:

- Laufband: Animal Treadmill Exer 3, Columbus Instruments (Columbus, USA)
- Sonographiegerät: Vevo 770 mit RMV 716 11-24 MHz Schallkopf, VisualSonics (Toronto, Kanada)

## 4.5 Studiendesign

Die HCR und LCR Ratten wurden jeweils in zwei Gruppen ( $n = 10$  pro Gruppe) randomisiert: HCR-Kontrolle (HCR-K), HCR-Training (HCR-T) und LCR-Kontrolle (LCR-K), LCR-Training (LCR-T) (Abb. 4). Mit allen Tieren wurde ein Test auf die

intrinsische Laufkapazität und eine transthorakale Echokardiographie durchgeführt. Die Trainingsgruppen HCR-T und LCR-T absolvierten über einen Zeitraum von vier Wochen ein standardisiertes aerobes Intervalltraining. Die transthorakale Echokardiographie wurde im Anschluss wiederholt. Alle HCR und LCR Ratten durchliefen im Alter zwischen 36 und 41 Wochen die hyperinsulinäme, euglykämie Klemme. Das Herz, die Mm. gastrocnemii und das Hodenfett wurden für einen Proteinnachweis aufgearbeitet. Mittels Western Blot wurde die Insulinsignalkaskade, speziell die Proteinkinase B/Akt und deren Phosphorylierung (P-Akt) untersucht.



*Abbildung 4: Studiendesign im zeitlichen Überblick; (HCR-K) - HCR-Kontrolle; (LCR-K) - LCR-Kontrolle; (HCR-T) - HCR-Training; (LCR-T) - LCR-Training; Lauftest - Test auf intrinsische Laufkapazität; Echo - transthorakale Echokardiographie; AIT - aerobes Intervalltraining; HEK - hyperinsulinäme, euglykämie Klemme.*

#### 4.6 Transthorakale Echokardiographie

Die Morphologie und Funktion des Herzens aller HCR und LCR Ratten wurden mit Hilfe der transthorakalen Echokardiographie untersucht. Nach Einleitung einer MMF-Narkose bestehend aus Medetomidin (0,15 mg/kg KG), Midazolam (2 mg/kg KG) und Fentanyl (0,005 mg/kg KG) wurden die Ratten parasternal links rasiert und auf einem beheizbaren Untersuchungstisch gelagert. Herz- und Atemfrequenz sowie die rektale Temperatur wurden kontinuierlich abgeleitet, um die MMF-Narkose zu überwachen. Die Ratten wurden im Zwei- und Vierkammerblick untersucht, wobei die Anlotung des Zweikammerblicks parasternal auf Höhe der Papillarmuskeln der Mitralklappe erfolgte.

Die gemessenen Parameter wurden im M-Mode erfasst, der das Bild einer Schnittebene im zeitlichen Verlauf darstellt. In dieser Einstellung können die exakte

Herzfrequenz sowie die Wanddicken von Vorder- und Hinterwand und das intraventrikuläre Volumen jeweils in der Systole und der Diastole ermittelt werden. Die Verkürzungsfraction (FS) und Ejektionsfraction (EF) wurden nach folgenden Formeln berechnet:

$$FS [\%] = (LVEDD - LVESD) / LVEDD$$

$$EF [\%] = (EDV - ESV) / EDV$$

LVEDD - Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser

LVESD - Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser

EDV - Enddiastolisches Volumen

ESV - Endsystolisches Volumen

Über die Neigung des Schallkopfes aus dem Zweikammerblick wurde der Vierkammerblick eingestellt und die Flussgeschwindigkeit des Blutes über der Mitralklappe (E- und A-Welle) und die Myokardbewegungen am septalen Mitralanulus (E') mittels Pulsed-Wave bzw. Tissue-Doppler gemessen.

#### **4.7 Test auf die intrinsische Laufkapazität**

Der Goldstandard zur Bestimmung der körperlichen Leistungsfähigkeit ist die Messung der maximalen Sauerstoffaufnahme ( $VO_2 \text{ max}$ ). Eine vergleichbar zuverlässige Methode ist die Messung der maximalen Laufgeschwindigkeit im Rahmen eines Lauftests bis zur Erschöpfung. Zwischen der maximalen Laufgeschwindigkeit und der  $VO_2 \text{ max}$  besteht eine starke Korrelation (Høydal et al. 2007b).

Mit allen HCR und LCR Ratten wurde auf einem Laufband ein Test auf ihre intrinsische Laufkapazität durchgeführt. Das Laufband hatte eine Steigung von  $25^\circ$  (vgl. Wisløff et al. 2001). Zunächst konnten sich die Ratten im Verlauf einer 15-minütigen Einlaufphase bei einer eingestellten Laufgeschwindigkeit von 13 m/min bei HCR und 4 m/min bei LCR an die Testbedingungen gewöhnen. Anschließend wurde alle 2 Minuten die Laufgeschwindigkeit stufenweise um 1,8 m/min gesteigert. Der Test wurde bis zur Erschöpfung der Tiere fortgesetzt (vgl. Wisløff et al. 2001, Høydal et al. 2007b). Das Sitzenbleiben auf dem Elektroimpulsbereich von dreimal 5 Sekunden oder 15 Sekunden am Stück innerhalb einer Geschwindigkeitsstufe wurde für HCR als Erschöpfung definiert. Das Sitzenbleiben von sechsmal 5 Sekunden oder



30 Sekunden am Stück innerhalb einer Geschwindigkeitsstufe wurde für LCR als Erschöpfung definiert. Die maximale aerobe Laufkapazität wurde durch Subtraktion der letzten vier absolvierten Geschwindigkeitsstufen bestimmt (vgl. Høydal et al. 2007b).

#### 4.8 Aerobes Intervalltraining

HCR und LCR Ratten wurden in die Trainingsgruppen (n = 10 pro Gruppe) HCR-Training (HCR-T) und LCR-Training (LCR-T) randomisiert. Beide Gruppen absolvierten über einen Zeitraum von vier Wochen ein standardisiertes aerobes Intervalltraining mit hoher Intensität auf einem Laufband mit 25° Steigung (vgl. Wisløff et al. 2001). Das Intervalltraining erfolgte an 5 aufeinanderfolgenden Tagen pro Woche mit anschließend 2-tägiger Pause. Zunächst durchliefen die Ratten eine 15-minütige Einlaufphase bei 45 % ihrer individuellen aeroben Laufkapazität (Abb. 5). Anschließend absolvierten sie das 90-minütige aerobe Intervalltraining. Das bedeutet, sie liefen 8 Minuten auf 85 % und 2 Minuten auf 55 % im kontinuierlichen Wechsel. Für jede Trainingswoche wurde eine Steigerung der maximalen aeroben Laufkapazität um 1,2 m/min angenommen und dementsprechend die Laufgeschwindigkeit gesteigert (vgl. Høydal et al. 2007b). Bei Erschöpfung der Tiere wurde das Training vor Ablauf der 90 Minuten abgebrochen. 24 Stunden nach der letzten Trainingseinheit wurde die hyperinsulinäme, euglykämie Klemme durchgeführt.

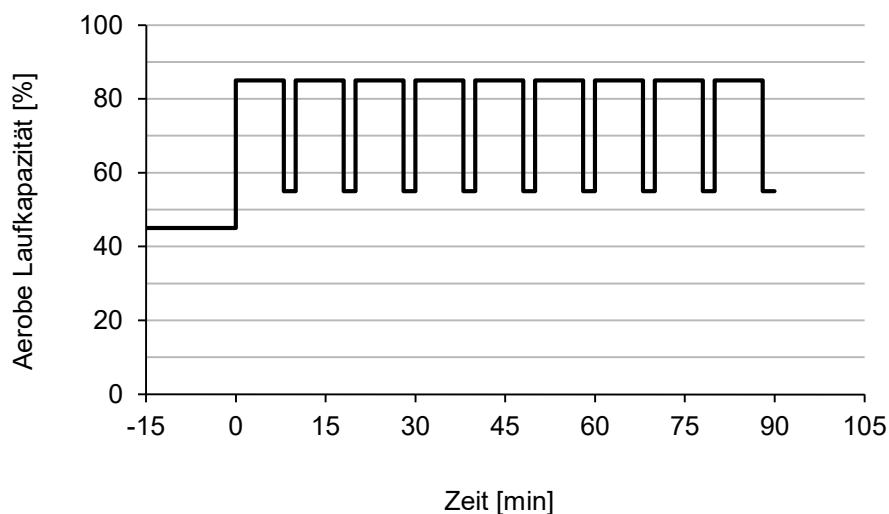


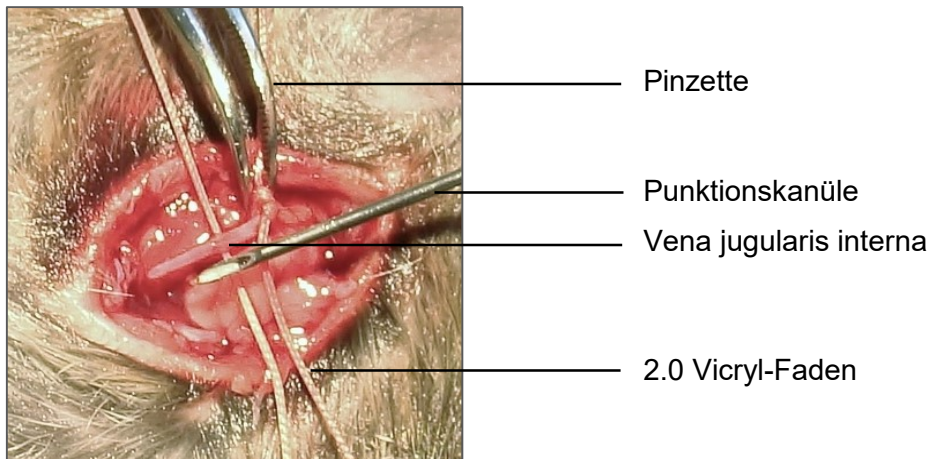
Abbildung 5: Schematischer Ablauf eines Trainingstages.

## 4.9 Hyperinsulinäme, euglykämie Klemme

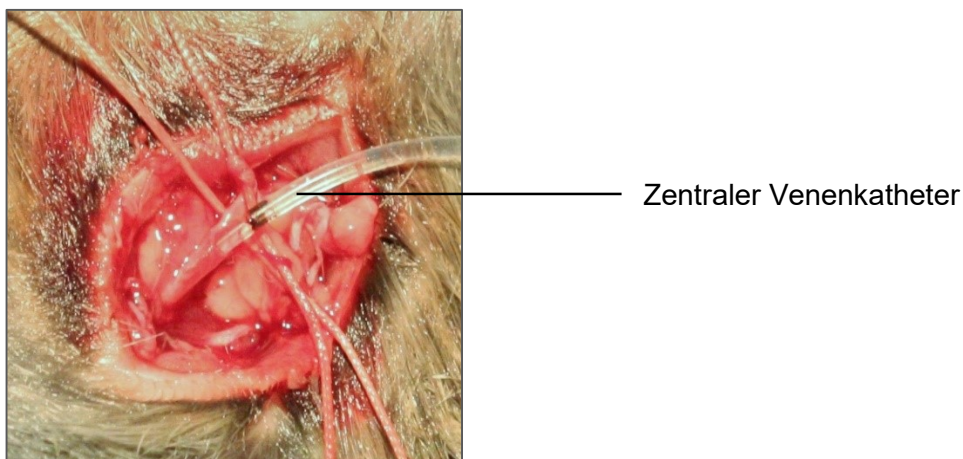
Alle HCR und LCR Ratten durchliefen im durchschnittlichen Alter zwischen 36 und 41 Wochen die hyperinsulinäme, euglykämie Klemme (HEK). Sie ist der Goldstandard zur direkten Messung der Insulinempfindlichkeit in vivo (DeFronzo et al. 1979). Die Glukoseinfusionsrate, die notwendig ist, um den Blutzuckerspiegel im euglykämischen Bereich während einer eingestellten Hyperinsulinämie konstant zu halten, quantifiziert die systemische Insulinempfindlichkeit (DeFronzo und Tripathy 2009). In der vorliegenden Arbeit wurde diese Methode mit der Infusion von radioaktiven Tracern kombiniert. Die Gabe des echten Glukosetracers 3- $^3\text{H}$ -Glukose dient der Bestimmung des basalen und insulinstimulierten Ganzkörperglukoseumsatzes. Die Gabe von  $^{14}\text{C}$ 2-Deoxyglukose, ein Glukosetraceranalogon, ermöglicht es, die Glukoseaufnahme einzelner Organe und Gewebe zu messen.

### *Chirurgischer Eingriff zur zentralen Katheteranlage*

Die Tiere waren nüchtern und der Blutzucker wurde vor der Narkose mit Blut aus der Schwanzspitze bestimmt. Die MMF-Narkose bestehend aus Medetomidin (0,15 mg/kg KG), Midazolam (2 mg/kg KG) und Fentanyl (0,005 mg/kg KG) wurde intramuskulär appliziert. Die Narkosetiefe wurde regelmäßig mittels Schmerzreiz, der am Fuß der Ratte gesetzt wurde, überprüft und gesteuert. Anschließend wurde die Ratte gewogen und auf dem Rücken gelagert. Die Haut der linken Halsregion wurde mit Kodan (Schülke & Mayr, Norderstedt, Deutschland) desinfiziert und der Hautschnitt supraklavikulär in Längsrichtung durchgeführt. Die Vena jugularis interna wurde aufgesucht und stumpf freipräpariert (Abb. 6). Mit Hilfe eines 2.0 Vicryl-Fadens wurde die Vene legiert, kaudal der Ligatur mit einer Kanüle eröffnet und ein Katheter (Silicone Tubing, Helix Medical, Weinheim, Deutschland) eingeführt (Abb. 7). Die korrekte intravasale Lage des Katheters wurde durch die Aspiration von Blut und das Spülen mit einer 0,9 %igen Kochsalzlösung (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) überprüft.



*Abbildung 6: Foto der freigelegten Vena jugularis interna sinistra.*



*Abbildung 7: Foto des zentralen Venenkatheters.*

#### *Hyperinsulinäme, euglykämie Klemme*

Der zentrale Venenkatheter wurde an einen Perfusor angeschlossen. Der Ratte wurde über 2 Minuten 0,3 ml einer tritiummarkierten Glukoselösung appliziert. Anschließend wurde eine kontinuierliche Flussrate von 0,23 ml/h eingestellt. Nach weiteren 75 Minuten wurde der Blutzucker mit Blut aus der Schwanzspitze bestimmt und 50 µl Blut abgenommen. Nach 78 Minuten wurde die kontinuierliche Infusion der tritiummarkierten Glukoselösung beendet und 0,05 ml einer tritiummarkierten Glukoselösung mit enthaltener gewichtsadaptierter Dosis Insulin wurde über eine Minute appliziert. Anschließend wurde dieses Gemisch mit einer kontinuierlichen

Flussrate von 0,23 ml/h infundiert. Parallel wurde eine 40 %ige Glukoselösung mittels Y-Konnektor über den zentralen Venenkatheter infundiert. Nun erfolgten alle 5 Minuten Blutzuckermessungen. Die Flussrate der 40 %igen Glukoselösung wurde, um ein stabiles Blutzuckerniveau zwischen 5 und 6 mmol/l zu erreichen, entsprechend angepasst. Die Flussrate der tritiummarkierten Glukoselösung mit Insulin blieb konstant. Die beiden Perfusoren wurden gestoppt, sobald das stabile Blutzuckerniveau über 15 Minuten mit einer konstanten Glukoseflussgeschwindigkeit aufrechterhalten werden konnte. Aus der jeweiligen Glukoseflussgeschwindigkeit und der Konzentration der Glukoselösung wurde die individuelle Glukoseinfusionsrate in [mg/kg/min] berechnet. Anschließend wurden 50 µl Blut aus der Schwanzspitze entnommen und erneut der Blutzucker gemessen. Es erfolgte nun die Gabe von 0,3 ml einer [<sup>14</sup>C]2-Deoxyglukoselösung über 2 Minuten, danach wurden die beiden Perfusoren wieder gestartet. Nach 5, 10, 15, 25, 35 und 45 Minuten wurden 50 µl Blut entnommen und der Blutzucker bestimmt. Alle entnommenen Blutproben sowie die Reste der radioaktiven Lösungen wurden bei -20 °C bis zur Aufarbeitung gelagert.

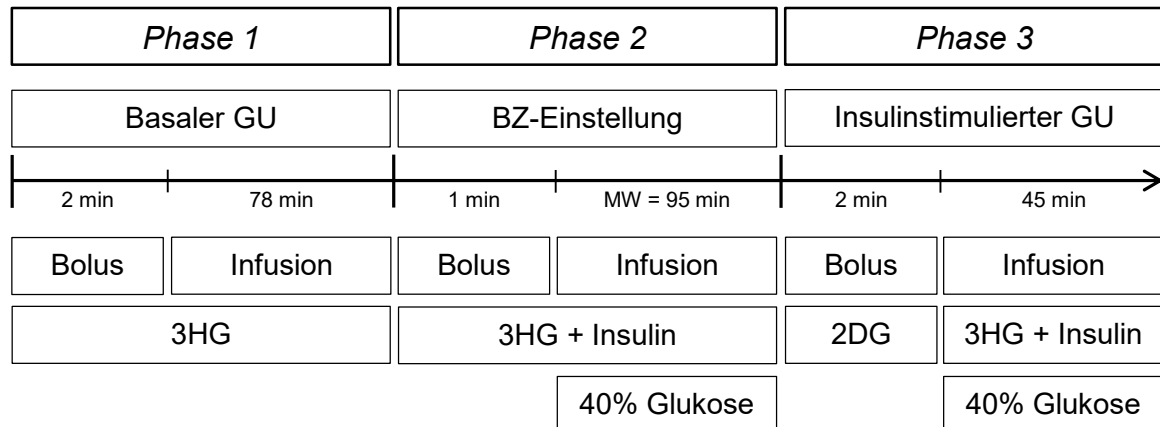


Abbildung 8: Schematischer Ablauf der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme; GU - Ganzkörperglukoseumsatz; BZ - Blutzucker; 3HG - [<sup>3</sup>H]-Glukose; 2DG - [<sup>14</sup>C]2-Deoxyglukose.

### Organentnahme

Die MMF-Narkose wurde vor der letzten Blutentnahme zum Zeitpunkt 45 Minuten vertieft und die Ratte mittels cervikaler Dislokation euthanisiert. Die Organe Herz, Lunge, Leber, Milz, Pankreas, Nieren, Gehirn sowie das Hodenfett, die Mm.

gastrocnemii und Mm. solei wurden entnommen, das Gewicht bestimmt, in Flüssigstickstoff eingefroren und anschließend bei -20 °C gelagert. Zudem wurde die linke Tibia entnommen und bei -20 °C gelagert.

### *Aufarbeitung der Proben*

Die gewonnenen Blutproben wurden bei 4 °C mit 12000 rpm (17400 g) für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipetiert und nacheinander mit 100 µl einer 3-molaren Zinksulfatlösung sowie mit 100 µl einer 3-molaren Bariumhydroxidlösung versetzt. Dieses Gemisch wurde bei 4 °C mit 12000 rpm (17400 g) für 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand auf zwei Portionen aufgeteilt. Zur ersten Portion wurden 3 ml Szintillationscocktail hinzugefügt, auf einem Probenrüttler gemischt und im Anschluss im Szintillationszähler gemessen. Dieser ermittelte den mittleren Zerfall von  $^{14}\text{C}$  und  $^3\text{H}$  pro Minute. Die zweite Portion wurde über Nacht im Wärmeschrank bei 40-50 °C getrocknet, am nächsten Tag mit Bidest gelöst, mit 3 ml Szintillationscocktail versetzt, gemischt und im Anschluss im Szintillationszähler gemessen.

Teile der radioaktiven Lösungen wurden ebenso mit Szintillationscocktail versetzt, gemischt und im Szintillationszähler gemessen, um die spezifische Aktivität der Isotope zu bestimmen.

Alle entnommenen Organe und Gewebe wurden im Flüssigstickstoff gemörser. 200 mg von jedem Organ und Gewebe wurden in 5 ml Bidest gelöst und anschließend homogenisiert. Das Homogenat wurde für 10 Minuten auf einem Wärmeblock gekocht, auf Eis abgekühlt und im Anschluss bei 4 °C mit 11000 g für 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und erneut bei 4 °C mit 11000 g für 15 Minuten zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wurde mit 3 ml Szintillationscocktail versetzt, gemischt und im Szintillationszähler gemessen. Ein weiterer Milliliter des Überstandes wurde für eine Säulenchromatographie genutzt. Durch dieses Verfahren wurde die nicht-phosphorylierte  $^{14}\text{C}$ -2-Deoxyglukose von der phosphorylierten Form getrennt. Das Eluat wurde mit 3 ml Szintillationscocktail versetzt, gemischt und im Szintillationszähler gemessen. Die erhaltenen Messwerte wurden genutzt, um die Parameter für den basalen und insulinstimulierten Glukosestoffwechsel zu berechnen.

### *Auswertung der Daten*

Der basale Glukosestoffwechsel wird durch die Parameter Glukoseinfusionsrate und basaler Ganzkörperglukoseumsatz beschrieben. Die Glukoseinfusionsrate errechnet sich aus der Konzentration der infundierten Glukoselösung und der jeweiligen Flussrate. Der basale Ganzkörperglukoseumsatz wird aus der Infusionsrate des tritiummarkierten Tracers in Phase 1 der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme in Abhängigkeit vom Produkt aus der im Serum vorhandenen Menge an tritiummarkiertem Wasser und dem Blutzucker zum Zeitpunkt vor der Blutzuckereinstellung berechnet.

Der insulinstimulierte Glukosestoffwechsel wird durch die Parameter Ganzkörperglukoseumsatz, Glykolyserate, hepatische Glukoseproduktion und [ $^{14}\text{C}$ ]-2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe jeweils unter Insulinstimulation beschrieben. Der insulinstimulierte Ganzkörperglukoseumsatz wird bestimmt anhand der Infusionsrate des tritiummarkierten Tracers in Phase 2 der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme in Bezug auf den Mittelwert der spezifischen Aktivität tritiummarkierter Glukose, die aus den Blutentnahmen zu den Zeitpunkten 15, 25, 35 und 45 Minuten gemessen wurde. Für die Berechnung der insulinstimulierten Glykolyserate wird der Mittelwert der spezifischen Aktivität tritiummarkierter Glukose, die aus den Blutentnahmen zu den Zeitpunkten 15, 25, 35 und 45 Minuten gemessen wurde, die Infusionsrate des tritiummarkierten Tracers in Phase 2 der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme und die Glukoseinfusionsrate benötigt. Die hepatische Glukoseproduktion ergibt sich aus der Differenz von Glukoseinfusionsrate und insulinstimuliertem Ganzkörperglukoseumsatz. Die [ $^{14}\text{C}$ ]-2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe wird berechnet aus dem Produkt des Mittelwerts der Blutzuckermesswerte aus Phase 3 der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme und der spezifischen Aktivität von [ $^{14}\text{C}$ ]-2-Deoxyglukose des jeweiligen Organs in Abhängigkeit vom vorliegenden [ $^{14}\text{C}$ ]-2-Deoxyglukoseangebot.

### *Bestimmung der Tibialänge*

Die entnommene linke Tibia wurde in eine Biozym-Lösung (Biozym SE, Claude Cosmetics, Köln, Deutschland) gegeben und für 24 Stunden im Wärmeschrank bei 58 °C inkubiert. Im Anschluss wurden noch vorhandene Muskelreste abpräpariert, die Tibia gereinigt und die Länge mit einem digitalen Mess-Schieber bestimmt.

## 4.10 Western Blot

### *Aufarbeitung der Proben und Proteinnachweis*

Das gewonnene Pulver von Herz, Mm. gastrocnemii und Hodenfett wurde für einen Proteinnachweis aufgearbeitet. Hierzu wurde das jeweilige Organpulver im Probenpuffer gelöst und mit Hilfe eines Glashomogenisators und eines Teflon-Pistills bei 2000 Umdrehungen/Minute für 1 Minute vermengt. Das Homogenat wurde für 15 Minuten auf Eis gestellt und im Anschluss bei 4 °C und 16000 g für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und für die Proteinbestimmung nach Bradford genutzt. Bei dieser Methode bildet das Farbreagenz Coomassie-Brillant-Blau mit Proteinen Komplexe, die photometrisch bestimmt werden können. Hierfür wurden 4 µl der Probe in 200 µl Farbreagenz für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend die Extinktion bei 595 nm bestimmt. Ebenso wurde die Extinktion gegen einen Leerwert, bestehend aus Bidest und Farbreagenz photometrisch bestimmt. Die Proteinkonzentration der Probe wurde an einer mit Rinderserum-Albumin (BSA) erstellten Kalibrierungskurve abgelesen.

### *Gelherstellung*

Tabelle 1 zeigt die Zusammensetzung des verwendeten 4 %igen Sammelgels und des 12 %igen Trenngels.

*Tabelle 1: Zusammensetzung von Sammel- und Trenngel*

	4 % Sammelgel	12 % Trenngel
Bidest [ml]	3,05	1,71
Polyacrylamid 30 % [ml]	0,67	2,00
Trenngelpuffer A [ml]	-	1,25
Sammelgelpuffer B [ml]	1,25	-
Temed [µl]	5,00	5,00
APS 10 % [µl]	33,0	33,0

Temed - Tetramethylethylendiamin; APS – Ammoniumperoxisulfat

### *Elektrophorese*

Die Gelelektrophorese wurde mit einem proteingrößenadaptierten Polyacrylamidgel durchgeführt. Für den Nachweis des Phosphorylierungsstatus der Proteinkinase B/Akt wurden ein 4 %iges Sammelgel und ein 12 %iges Trenngel verwendet. Jede Tasche wurde mit 25 µg Protein beladen. Leere Taschen wurden mit 5 µl Dreifach-Lämmli-Puffer befüllt. Als Marker für die Proteingröße wurden Precision Plus Protein Western C und Dual Color (Bio-Rad, München, Deutschland) verwendet. Die Elektrophorese wurde mit einer 15-minütigen Einlaufphase und einer Stromstärke von 20 mA gestartet. Für die folgende 60-minütige Auftrennphase wurde die Stromstärke auf 40 mA erhöht.

### *Elektroblotting*

Im Anschluss an die Elektrophorese wurden Trenn- und Sammelgel voneinander gelöst und das Sammelgel entfernt. Das Trenngel wurde auf eine Polyvinylidenfluoridmembran (PVDF, Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland) überführt und es folgte eine Proteinübertragung im Semi-Dry-Verfahren. Das Gel wurde abschließend 1 Stunde in eine Coomassie-Lösung eingelegt und danach mit 10 %iger Essigsäure entfärbt.

### *Blockierung und Proteindetektion*

Die PVDF-Membran wurde im weiteren Verlauf zunächst mit TBS-T 5 Minuten gewaschen, anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur im Blockierungspuffer (Magermilch 5 % + TBS-T 0,1 %) geschwenkt und erneut dreimal 10 Minuten mit TBS-T gewaschen. Danach wurde die PVDF-Membran mit dem Primärantikörper für P-Akt (Phospho-Akt (Ser473) antibody #9271, Cell Signaling, Frankfurt a. M., Deutschland) über Nacht bei 4 °C inkubiert. Im nächsten Schritt wurde die PVDF-Membran dreimal 10 Minuten mit TBS-T gewaschen, anschließend mit dem Sekundärantikörper (anti-rabbit Ig, NA 934V, Amersham Bioscience/GE Healthcare, Freiburg, Deutschland) 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und erneut dreimal 10 Minuten mit TBS-T gewaschen. Abschließend wurde die PVDF-Membran 10 Sekunden in 10 ml ECL-Lösung (5 ml ECL-Lösung A + 5 ml ECL-Lösung B) inkubiert und die Chemilumineszenz in einem Image-Analyzer LAS-3000 fotografiert.

Um die PVDF-Membran für einen weiteren Proteinnachweis nutzen zu können, wurde sie nun in TBS-T überführt, anschließend 1 Stunde im Strippingpuffer



geschwenkt und erneut dreimal 10 Minuten mit TBS-T gewaschen. Nun erfolgte die Inkubation der PVDF-Membran mit Blockierungspuffer für 2 Stunden bei Raumtemperatur und danach die Inkubation mit dem Primärantikörper für Akt (Akt antibody #9272, Cell Signaling) über Nacht bei 4 °C. Das weitere Vorgehen mit Waschvorgängen, Sekundärantikörper, Chemilumineszenz und Foto entsprach dem oben Beschriebenen. Abschließend wurde die PVDF-Membran mit Amidoschwarz (Naphtol blue black) gefärbt und für die weitere Analyse eingescannt.

#### **4.11 Statistik und Datenverarbeitung**

##### *Signifikanzprüfung*

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit SigmaStat 3.5 (Systat Software). Die Unterschiede zwischen den Mittelwerten von zwei Gruppen wurden mit dem Zweistichproben-t-Test auf ihre Signifikanz überprüft. Für den Vergleich von vier Gruppen wurde eine zweifaktorielle (Population X Training) Varianzanalyse (two-way ANOVA) durchgeführt und die Signifikanzüberprüfung erfolgte mit dem Bonferroni-Test. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als signifikant angenommen.

##### *Datenverarbeitung*

Mit Hilfe von Excel 2010 (Microsoft Corporation) wurden die Daten verarbeitet und die Diagramme erstellt. Die Auswertung der mit Western Blot detektierten Proteine erfolgte mit AIDA 2.0 (Image Analyzer, Raytest).

##### *Ergebnisdarstellung*

Die Ergebnisse sind als Mittelwert (MW) mit dem Standardfehler (SEM) des Mittelwertes angegeben ( $MW \pm SEM$ ). Die Mittelwerte der Stichproben und die Standardfehler wurden mit Hilfe der gängigen Formeln berechnet.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Charakteristika von HCR und LCR der 28. Generation

In diesem Abschnitt erfolgt eine Gegenüberstellung der Charakteristika selektiv gezüchteter Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit. Dieser Vergleich verdeutlicht den Einfluss des genetischen Hintergrundes auf wichtige phänotypische Merkmale dieser Tiere.

#### 5.1.1 Intrinsische Laufkapazität

Tabelle 2 stellt die im Rahmen des Tests auf die intrinsische Laufkapazität ermittelte maximale Laufzeit, maximale Laufgeschwindigkeit und maximale aerobe Laufkapazität von untrainierten HCR und LCR dar. LCR erreichten eine niedrigere maximale Laufzeit, maximale Laufgeschwindigkeit und maximale aerobe Laufkapazität im Vergleich zu HCR.

*Tabelle 2: Intrinsische Laufkapazität von untrainierten HCR und LCR*

	HCR	LCR
Maximale Laufzeit [min]	24,5 ± 0,5	21,9 ± 0,3 ***
Maximale Laufgeschwindigkeit [m/min]	23,4 ± 0,5	12,1 ± 0,3 ***
Maximale aerobe Laufkapazität [m/min]	16,2 ± 0,5	4,9 ± 0,3 ***

MW ± SEM; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. HCR;  $n = 17-19$  pro Gruppe; (HCR) - high capacity runners; (LCR) - low capacity runners.

### 5.1.2 Körpergewicht, Tibialänge und absolute Organgewichte

Tabelle 3 stellt das Körpergewicht, die Tibialänge und die absoluten Organgewichte von untrainierten HCR und LCR dar. LCR zeigten ein deutlich höheres Körpergewicht, eine längere Tibia und einen größeren Körpergewicht/Tibia-Index im Vergleich zu HCR. Zudem wiesen die Leber, die Mm. gastrocnemii, die Mm. solei und das Hodenfett von LCR ein höheres Gewicht auf. Das Herzgewicht unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen.

*Tabelle 3: Körpergewicht, Tibialänge und absolute Organgewichte von untrainierten HCR und LCR*

	HCR-K	LCR-K
Körpergewicht [g]	379 ± 19	523 ± 16 ***
Tibialänge [mm]	41,6 ± 0,45	44,0 ± 0,28 ***
KG/Tibia-Index [g/cm <sup>2</sup> ]	21,8 ± 0,8	27,0 ± 1,0 ***
Herz [mg]	1145 ± 54	1268 ± 48
Leber [mg]	9010 ± 521	11255 ± 496 **
Mm. gastrocnemii [mg]	4904 ± 278	5584 ± 170 *
Mm. solei [mg]	355 ± 24	425 ± 14 *
Hodenfett [mg]	4575 ± 434	11426 ± 1046 ***

MW ± SEM; \* p < 0,05 vs. HCR-K; \*\* p < 0,01 vs. HCR-K; \*\*\* p < 0,001 vs. HCR-K; n = 8-9 pro Gruppe; (HCR-K) - HCR-Kontrolle; (LCR-K) - LCR-Kontrolle; KG - Körpergewicht.

### 5.1.3 Relative Organgewichte

Tabelle 4 stellt das Verhältnis von Organgewicht zu Körpergewicht von untrainierten HCR und LCR dar. LCR zeigten bezogen auf das Körpergewicht ein geringeres Gewicht für das Herz, die Mm. gastrocnemii und die Mm. solei, aber ein deutlich höheres Hodenfettgewicht. Das Gewicht der Leber bezogen auf das Körpergewicht unterschied sich zwischen beiden Gruppen nicht.

*Tabelle 4: Verhältnis von Organgewicht zu Körpergewicht von untrainierten HCR und LCR*

	HCR-K	LCR-K
Herz/KG [mg/g]	3,03 ± 0,06	2,42 ± 0,06 ***
Leber/KG [mg/g]	23,8 ± 0,59	21,6 ± 0,88
Mm. gastrocnemii/KG [mg/g]	13,0 ± 0,48	10,7 ± 0,26 ***
Mm. solei/KG [mg/g]	0,93 ± 0,03	0,82 ± 0,03 *
Hodenfett/KG [mg/g]	12,1 ± 1,05	21,8 ± 1,92 ***

MW ± SEM; \*  $p < 0,05$  vs. HCR-K; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. HCR-K;  $n = 8-9$  pro Gruppe;  
(HCR-K) - HCR-Kontrolle; (LCR-K) - LCR-Kontrolle; KG - Körpergewicht.

### 5.1.4 Kardiale Morphologie und Funktion

Tabelle 5 stellt die echokardiographisch bestimmten Parameter von untrainierten HCR und LCR dar. LCR zeigten eine höhere linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke im Vergleich zu HCR. Der linksventrikuläre enddiastolische Innendurchmesser unterschied sich zwischen beiden Gruppen nicht. Die Verkürzungsfraction und die Ejektionsfraction, Parameter für die systolische Herzfunktion, waren für LCR im Vergleich zu HCR höher. Die Parameter für die diastolische Herzfunktion E/A und E/E' unterschieden sich zwischen beiden Gruppen nicht.

*Tabelle 5: Echokardiographische Charakterisierung von untrainierten HCR und LCR*

	HCR	LCR
HF [1/min]	234 ± 6	231 ± 6
LVPWD [mm]	1,55 ± 0,04	1,75 ± 0,04 ***
LVEDD [mm]	7,63 ± 0,14	7,66 ± 0,12
FS [%]	33,3 ± 1,24	36,9 ± 1,05 *
EF [%]	59,5 ± 1,62	64,6 ± 1,35 *
E/A	1,87 ± 0,05	1,92 ± 0,08
E/E'	15,9 ± 0,51	17,0 ± 0,73

MW ± SEM; \* p < 0,05 vs. HCR; \*\*\* p < 0,001 vs. HCR; n = 19 pro Gruppe;

HF - Herzfrequenz; LVPWD - linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke;

LVEDD - linksventrikulärer enddiastolischer Innendurchmesser; FS - Verkürzungsfraction;

EF - Ejektionsfraction; E/A - E-Welle/A-Welle; E/E' - E-Welle/E'-Welle.

### 5.1.5 Glukosestoffwechsel

Tabelle 6 stellt die Spontan- und Nüchternblutzuckerspiegel sowie die mit Hilfe der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme ermittelten Parameter für den basalen Glukosestoffwechsel von untrainierten HCR und LCR dar. LCR fielen durch einen diabetischen Phänotyp mit einem höheren Spontanblutzuckerspiegel und einem höheren Nüchternblutzuckerspiegel im Vergleich zu HCR auf. Der Ganzkörperglukoseumsatz und die hepatische Glukoseproduktion zeigten keine Unterschiede zwischen HCR und LCR.

*Tabelle 6: Blutzuckerspiegel und Parameter des basalen Glukosestoffwechsels von untrainierten HCR und LCR*

	HCR-K	LCR-K
Spontanblutzucker [mmol/l]	4,10 ± 0,19	4,69 ± 0,05 **
Nüchternblutzucker [mmol/l]	3,43 ± 0,10	3,99 ± 0,10 ***
Ganzkörperglukoseumsatz basal [mg/kg/min]	2,25 ± 0,30	2,11 ± 0,14

MW ± SEM; \*\* p < 0,01 vs. HCR-K; \*\*\* p ≤ 0,001 vs. HCR-K; n = 7-9 pro Gruppe; (HCR-K) - HCR-Kontrolle; (LCR-K) - LCR-Kontrolle; Ganzkörperglukoseumsatz basal entspricht hepatischer Glukoseproduktion basal in mg/kg/min.

Tabelle 7 stellt die mit Hilfe der hyperinsulinämen, euglykämien Klemme ermittelten Parameter für den insulinstimulierten Glukosestoffwechsel von untrainierten HCR und LCR dar. Unter Insulinstimulation wiesen LCR eine geringere Glukoseinfusionsrate, Ganzkörperglukoseumsatz und Glykolyserate im Vergleich zu HCR auf. Die Suppression der hepatischen Glukoseproduktion durch Insulin zeigte keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen.

*Tabelle 7: Parameter des insulinstimulierten Glukosestoffwechsels von untrainierten HCR und LCR*

	HCR-K	LCR-K
Glukoseinfusionsrate [mg/kg/min]	19,4 ± 1,92	13,5 ± 0,88 *
Ganzkörperglukoseumsatz insulinstimuliert [mg/kg/min]	8,52 ± 1,15	4,79 ± 0,17 **
Glykolyserate insulinstimuliert [mg/kg/min]	23,8 ± 2,49	13,5 ± 2,58 *
Hepatische Glukoseproduktion insulinstimuliert [mg/kg/min]	-10,9 ± 1,34	-8,76 ± 0,81

MW ± SEM; \* p < 0,05 vs. HCR-K; \*\* p < 0,01 vs. HCR-K; n = 7-8 pro Gruppe;  
(HCR-K) - HCR-Kontrolle; (LCR-K) - LCR-Kontrolle.

Tabelle 8 stellt die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe und Gewebe von untrainierten HCR und LCR dar. Zwischen HCR und LCR zeigten sich keine Unterschiede in der insulinstimulierten [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme in Herz, Leber, Mm. gastrocnemii, Mm. solei und Hodenfett.

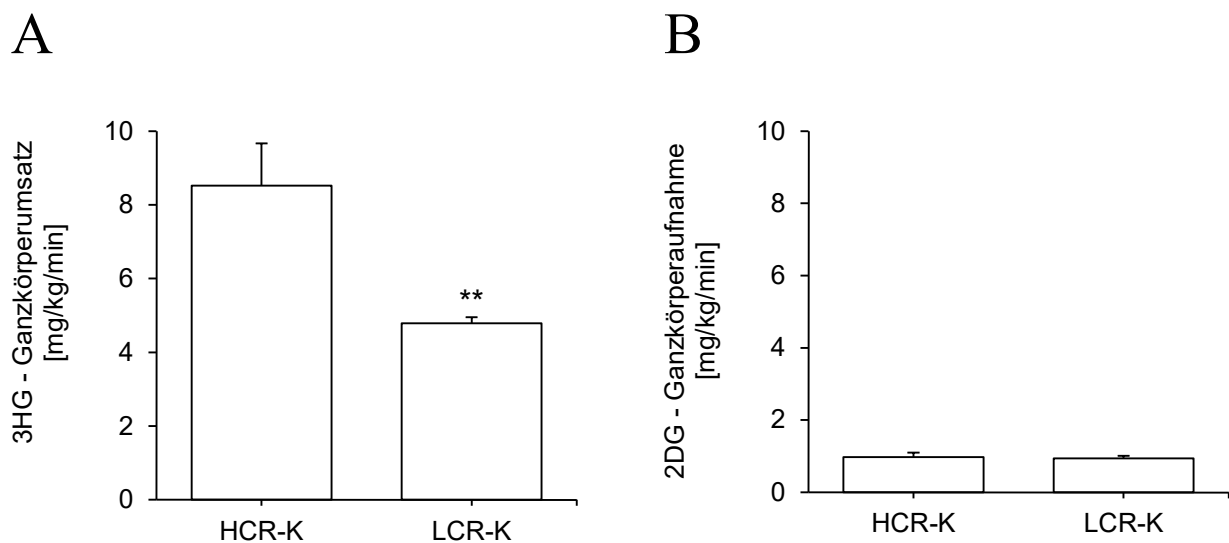
*Tabelle 8: Insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe von untrainierten HCR und LCR*

	HCR-K	LCR-K
Herz [mg/kg/min]	9,91 $\pm$ 1,61	12,6 $\pm$ 1,02
Leber [mg/kg/min]	2,03 $\pm$ 0,28	1,88 $\pm$ 0,08
Mm. gastrocnemii [mg/kg/min]	1,30 $\pm$ 0,09	1,40 $\pm$ 0,18
Mm. solei [mg/kg/min]	1,62 $\pm$ 0,32	1,71 $\pm$ 0,11
Hodenfett [mg/kg/min]	0,32 $\pm$ 0,09	0,27 $\pm$ 0,02

MW  $\pm$  SEM; n = 6-8 pro Gruppe; (HCR-K) - HCR-Kontrolle; (LCR-K) - LCR-Kontrolle.



Abbildung 9 stellt den insulinstimulierten Ganzkörperglukoseumsatz gemessen mit dem echten Glukosetracer 3- $^{3}\text{H}$ -Glukose (3HG) und die insulinstimulierte Ganzkörperglukoseaufnahme berechnet mit dem Glukosetraceranalogon  $^{14}\text{C}$ 2-Deoxyglukose (2DG) von untrainierten HCR und LCR gegenüber. HCR zeigten bei der Messung mit 3HG einen höheren Ganzkörperglukoseumsatz im Vergleich zu LCR (Abb. 9A). Bei der Berechnung der Ganzkörperglukoseaufnahme mit 2DG trat zwischen HCR und LCR kein Unterschied auf (Abb. 9B).



**Abbildung 9:** Gegenüberstellung von (A) insulinstimulierter Ganzkörperglukoseumsatz (gemessen mittels 3- $^{3}\text{H}$ -Glukose) und (B) insulinstimulierter Ganzkörperglukoseaufnahme (berechnet mittels  $^{14}\text{C}$ 2-Deoxyglukose) von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K);  $\text{MW} \pm \text{SEM}$ ; \*\*  $p < 0,01$  vs. HCR-K;  $n = 7-8$  pro Gruppe.

## 5.2 Einfluss von Ausdauertraining auf HCR und LCR der 28. Generation

Für die vorliegende Arbeit wurde bei selektiv gezüchteten Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit ein standardisiertes aerobes Intervalltraining mit hoher Intensität durchgeführt. Der Einfluss des Ausdauertrainings auf wichtige phänotypische Merkmale dieser Tiere wurde untersucht.

### 5.2.1 Laufgeschwindigkeit

Abbildung 10 zeigt den Verlauf der täglich absolvierten Laufgeschwindigkeit von HCR und LCR während des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings. Das Ausdauertraining führte zu einer Steigerung der Laufgeschwindigkeit bei beiden Gruppen. LCR fielen über den gesamten Trainingszeitraum durch eine geringere Laufgeschwindigkeit im Vergleich zu HCR auf.

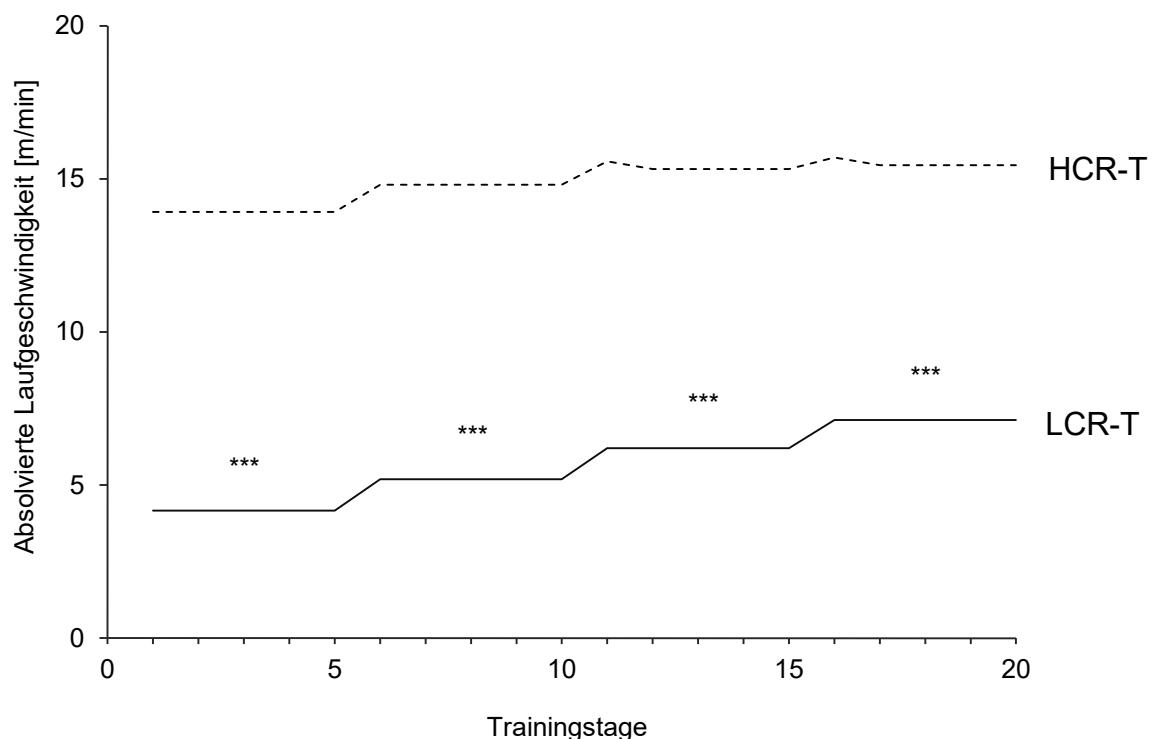


Abbildung 10: Verlauf der täglich absolvierten Laufgeschwindigkeit während des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. HCR-T;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

### 5.2.2 Körpergewicht

Abbildung 11 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf die Entwicklung des Körpergewichts und auf das Körpergewicht zum Zeitpunkt der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme von HCR und LCR. Das Ausdauertraining führte zu einer Abnahme des Körpergewichts bei HCR und LCR (Abb. 11A). Die Gewichtsreduktion war bei HCR stärker ausgeprägt (10,3 % vs. 1,5 %;  $p < 0,001$ ). Die Interaktion von Population und Training beeinflusste die Entwicklung des Körpergewichts signifikant. Trainierte HCR hatten zum Zeitpunkt der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme ein deutlich geringeres Körpergewicht als trainierte LCR (Abb. 11B).

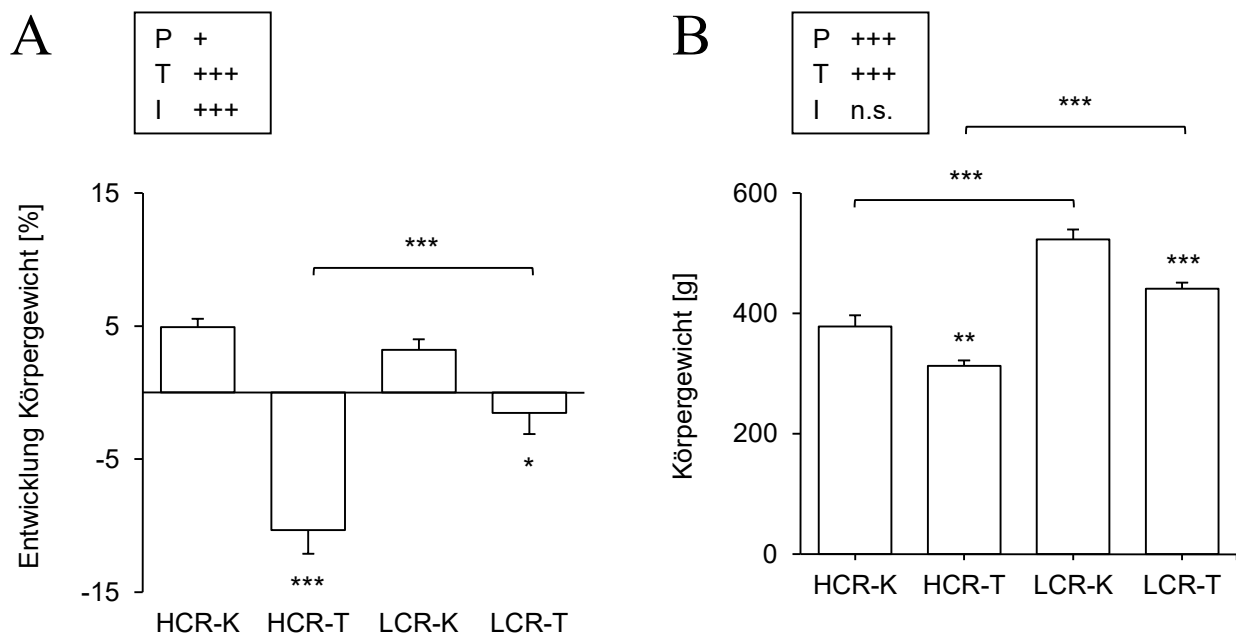


Abbildung 11: (A) Entwicklung des Körpergewichts und (B) Körpergewicht zum Zeitpunkt der HEK von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; n.s. - nicht signifikant; +  $p < 0,05$ ; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

### 5.2.3 Absolute und relative Organgewichte

Abbildung 12 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf das absolute und relative Herzgewicht von HCR und LCR. Das Ausdauertraining hatte auf das absolute Herzgewicht von HCR und LCR keinen Einfluss (Abb. 12A). Trainierte HCR fielen durch ein geringeres absolutes Herzgewicht im Vergleich zu trainierten LCR auf.

Das Herzgewicht bezogen auf das Körpergewicht ist durch das körperliche Training bei HCR und LCR angestiegen (12,9 % vs. 14,5 %) (Abb. 12B). Trainierte HCR hatten ein höheres Herz- zu Körpergewicht als trainierte LCR.

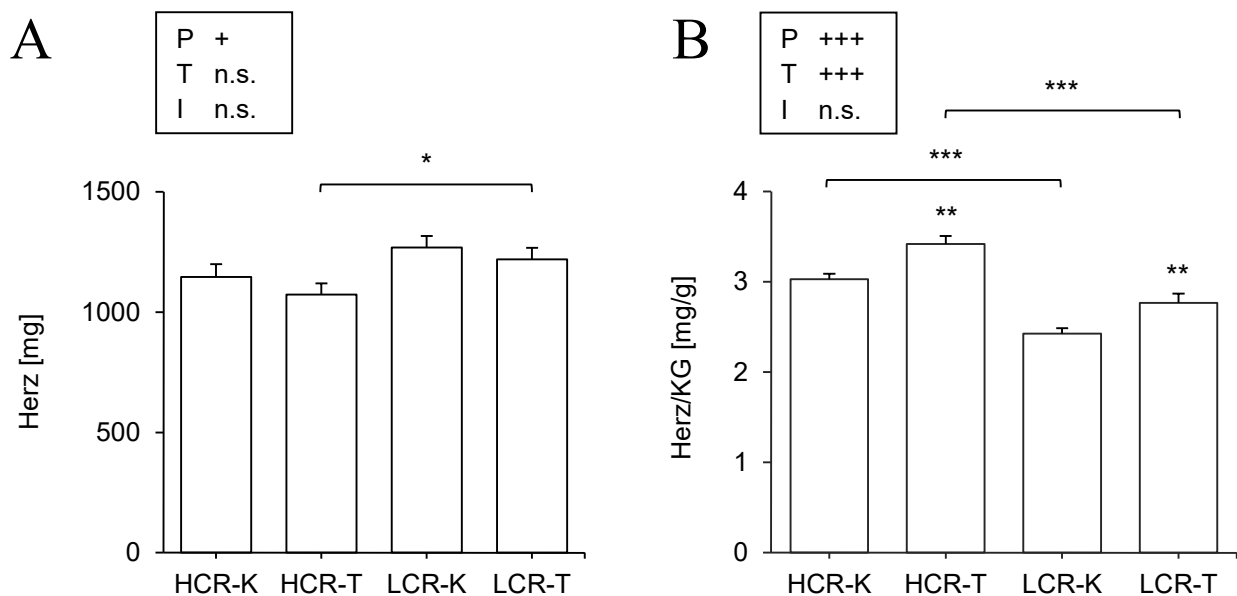


Abbildung 12: (A) Herzgewicht und (B) Herz- zu Körpergewicht von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

Abbildung 13 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf das absolute und relative Lebergewicht von HCR und LCR. Das Ausdauertraining führte zu einer Abnahme des absoluten Lebergewichts bei beiden Gruppen (15,2 % vs. 18,1 %) (Abb. 13A). Trainierte HCR fielen durch ein geringeres absolutes Lebergewicht im Vergleich zu trainierten LCR auf.

Das körperliche Training hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Lebergewicht bezogen auf das Körpergewicht bei HCR und LCR (Abb. 13B). Trainierte HCR zeigten im Vergleich zu trainierten LCR ein höheres Leber- zu Körpergewicht.

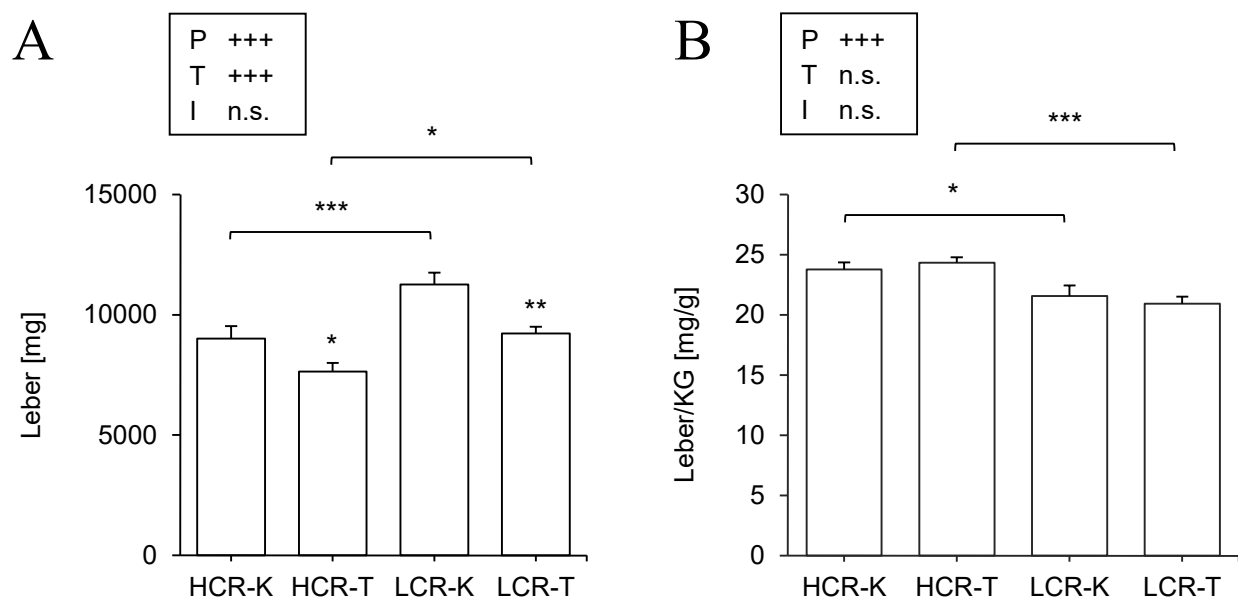


Abbildung 13: (A) Lebergewicht und (B) Leber- zu Körpergewicht von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

Abbildung 14 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf das absolute und relative Gewicht der Mm. gastrocnemii von HCR und LCR. Nur bei HCR führte das Ausdauertraining zu einer Gewichtsreduktion der Mm. gastrocnemii (13,2 %;  $p < 0,05$ ) (Abb. 14A). Trainierte HCR hatten ein geringeres absolutes Gewicht der Mm. gastrocnemii als trainierte LCR.

Nur bei LCR führte das Ausdauertraining zu einer Zunahme des Gewichts der Mm. gastrocnemii bezogen auf das Körpergewicht (10,7 %;  $p < 0,05$ ) (Abb. 14B). Trainierte HCR zeigten im Vergleich zu trainierten LCR ein höheres Gewicht der Mm. gastrocnemii bezogen auf das Körpergewicht.

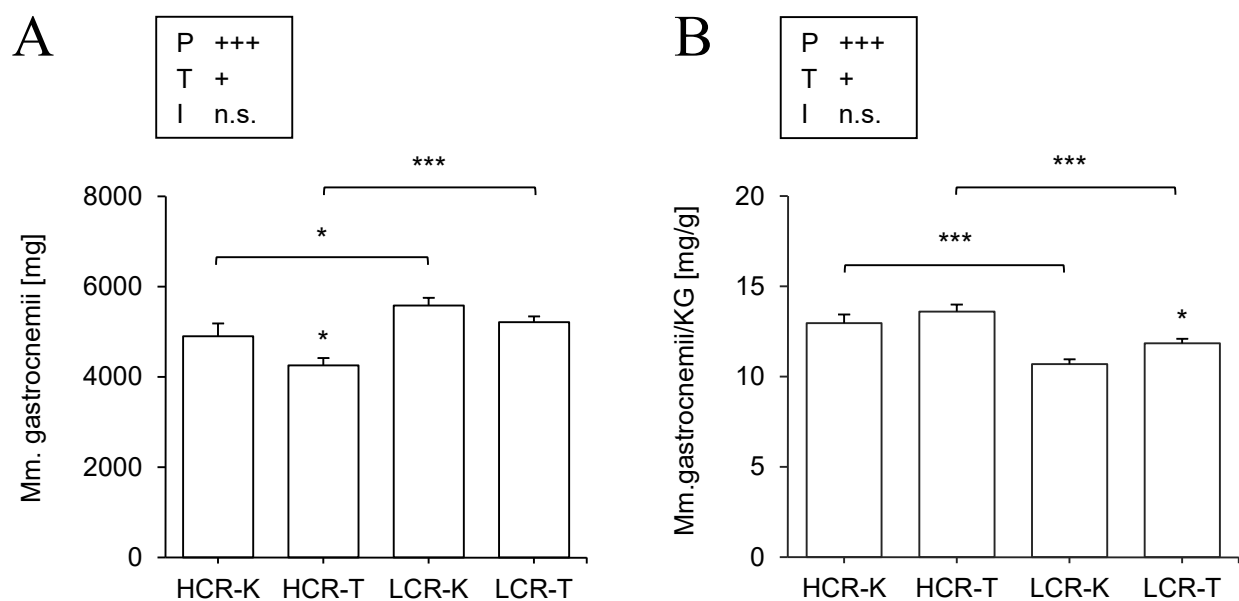


Abbildung 14: (A) Gewicht Mm. gastrocnemii und (B) Gewicht Mm. gastrocnemii zu Körpergewicht von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

Abbildung 15 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf das absolute und relative Gewicht der Mm. solei von HCR und LCR. Nur bei LCR führte das Ausdauertraining zu einer Abnahme des absoluten Gewichts der Mm. solei (13,6 %;  $p < 0,05$ ) (Abb. 15A).

Das Gewicht der Mm. solei bezogen auf das Körpergewicht ist durch das Ausdauertraining nur bei HCR angestiegen (19,4 %;  $p < 0,01$ ) (Abb. 15B). Trainierte HCR zeigten im Vergleich zu trainierten LCR ein höheres Gewicht der Mm. solei bezogen auf das Körpergewicht. Die Interaktion zwischen Population und Training beeinflusste das Gewicht der Mm. solei bezogen auf das Körpergewicht signifikant.

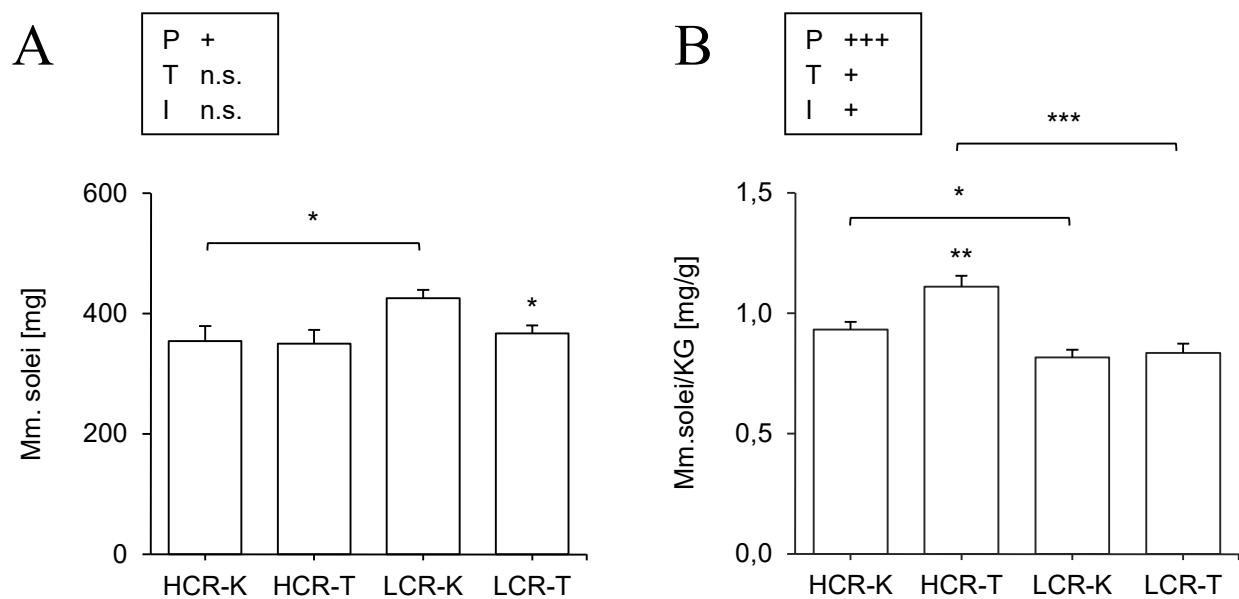


Abbildung 15: (A) Gewicht Mm. solei und (B) Gewicht Mm. solei zu Körpergewicht von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

Abbildung 16 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf das absolute und relative Gewicht des Hodenfetts von HCR und LCR. Sowohl bei HCR als auch bei LCR kam es durch das Ausdauertraining zu einer Reduktion des absoluten Hodenfettgewichts. Die Gewichtsabnahme war bei HCR im Vergleich zu LCR deutlich stärker ausgeprägt (51,6 % vs. 31,7 %) (Abb. 16A). Trainierte HCR hatten ein geringeres Hodenfettgewicht als trainierte LCR.

Das Ausdauertraining führte bei HCR und LCR zu einer Abnahme des Hodenfettgewichts bezogen auf das Körpergewicht (41,9 % vs. 19,4 %) (Abb. 16B). Trainierte HCR fielen durch ein deutlich geringeres Hodenfett- zu Körpergewicht als trainierte LCR auf.

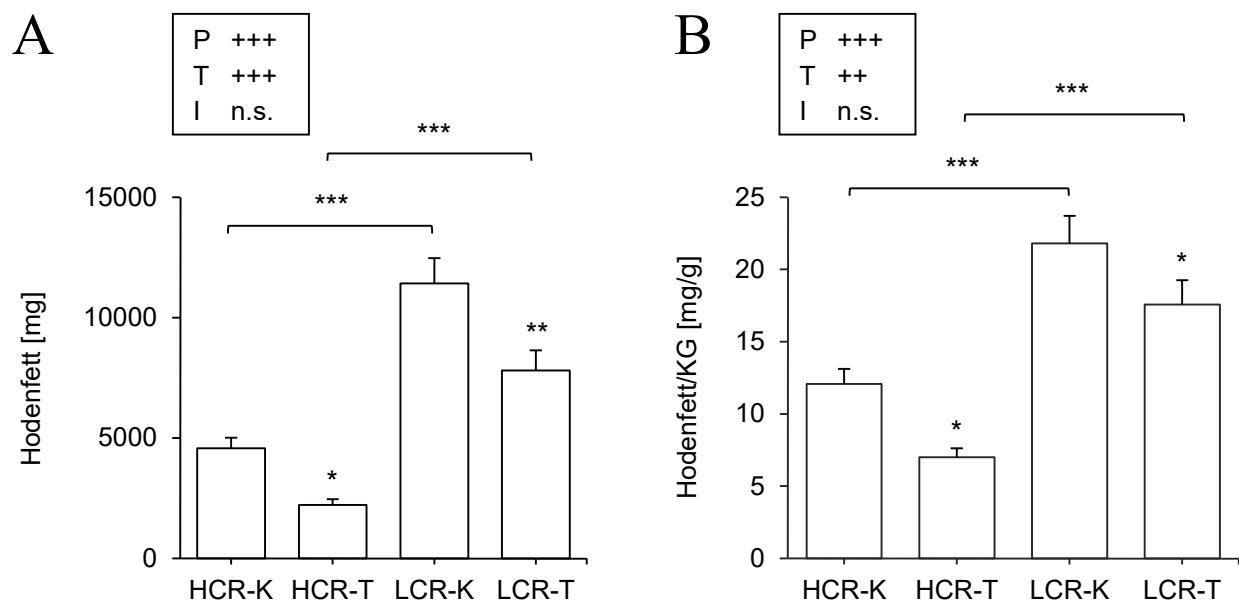
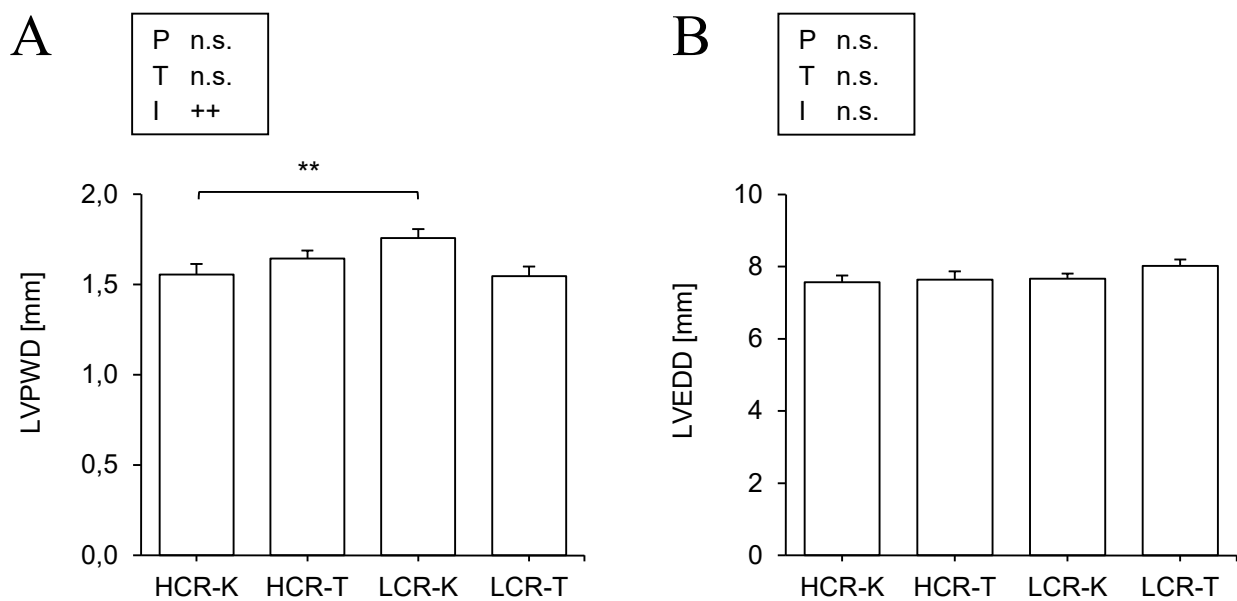


Abbildung 16: (A) Hodenfettgewicht und (B) Hodenfett- zu Körpergewicht von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; ++  $p < 0,01$ ; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-10$  pro Gruppe.



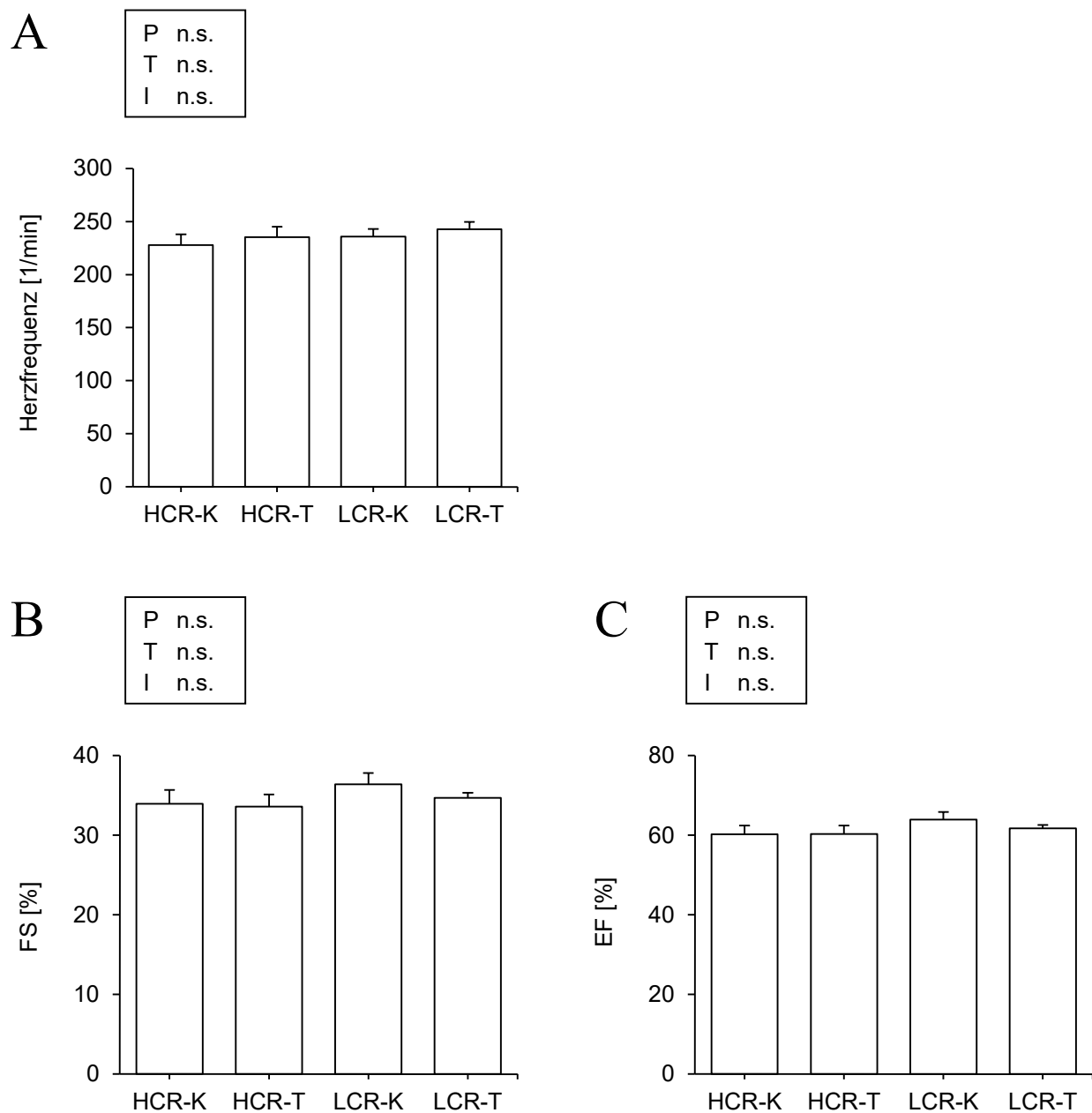
### 5.2.4 Kardiale Morphologie und Funktion

Abbildung 17 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf die echokardiographisch bestimmte Morphologie des Herzens von HCR und LCR. Die linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke wurde durch das Ausdauertraining bei LCR reduziert (11,9 %;  $p < 0,01$ ) (Abb. 17A). Die Interaktion zwischen Population und Training beeinflusste die linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke signifikant. Der linksventrikuläre enddiastolische Innendurchmesser blieb bei HCR und LCR unverändert (Abb. 17B).



**Abbildung 17: Echokardiographische Charakterisierung:** (A) LVPWD - linksventrikuläre diastolische Hinterwanddicke und (B) LVEDD - linksventrikulärer enddiastolischer Innendurchmesser von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; ++  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,01$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-11$  pro Gruppe.

Abbildung 18 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf die echokardiographisch bestimmte Funktion des Herzens von HCR und LCR. Das Ausdauertraining hatte keinen Einfluss auf die Herzfrequenz (Abb. 18A). Ebenso blieben die Parameter für die systolische Herzfunktion FS (Abb. 18B) und EF (Abb. 18C) bei HCR und LCR unverändert. Der Parameter für die diastolische Herzfunktion E/A wurde bei LCR durch das Ausdauertraining tendenziell gesteigert (14,3 %; n.s.) (Abb. 18D) und E/E' wurde reduziert (19,5 %;  $p < 0,01$ ) (Abb. 18E).



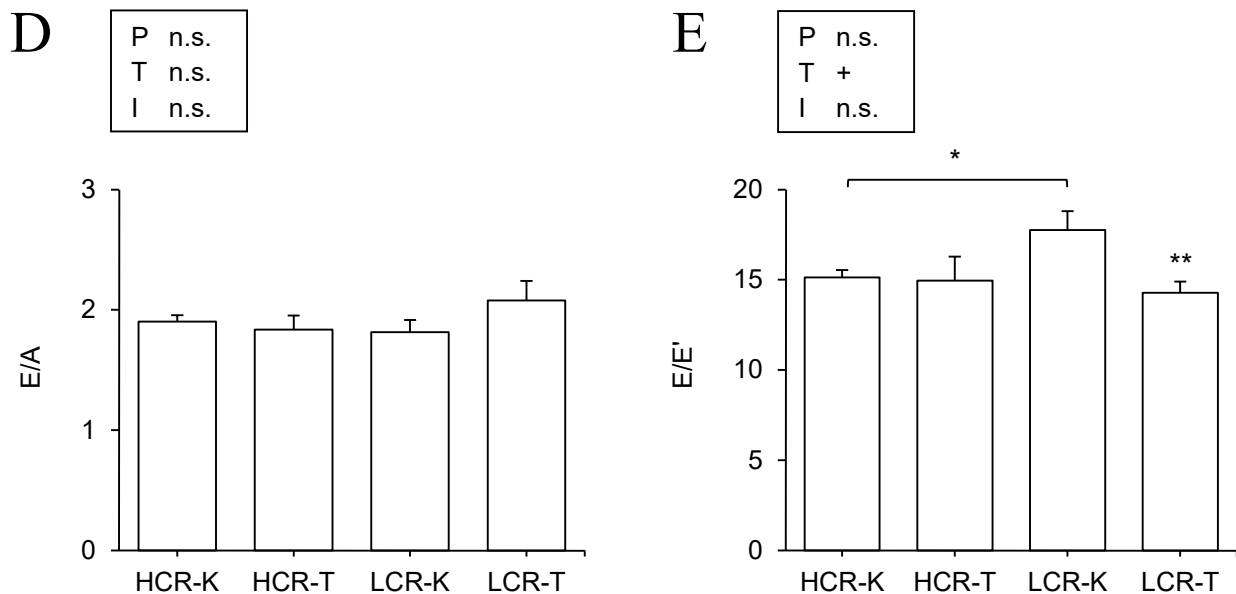
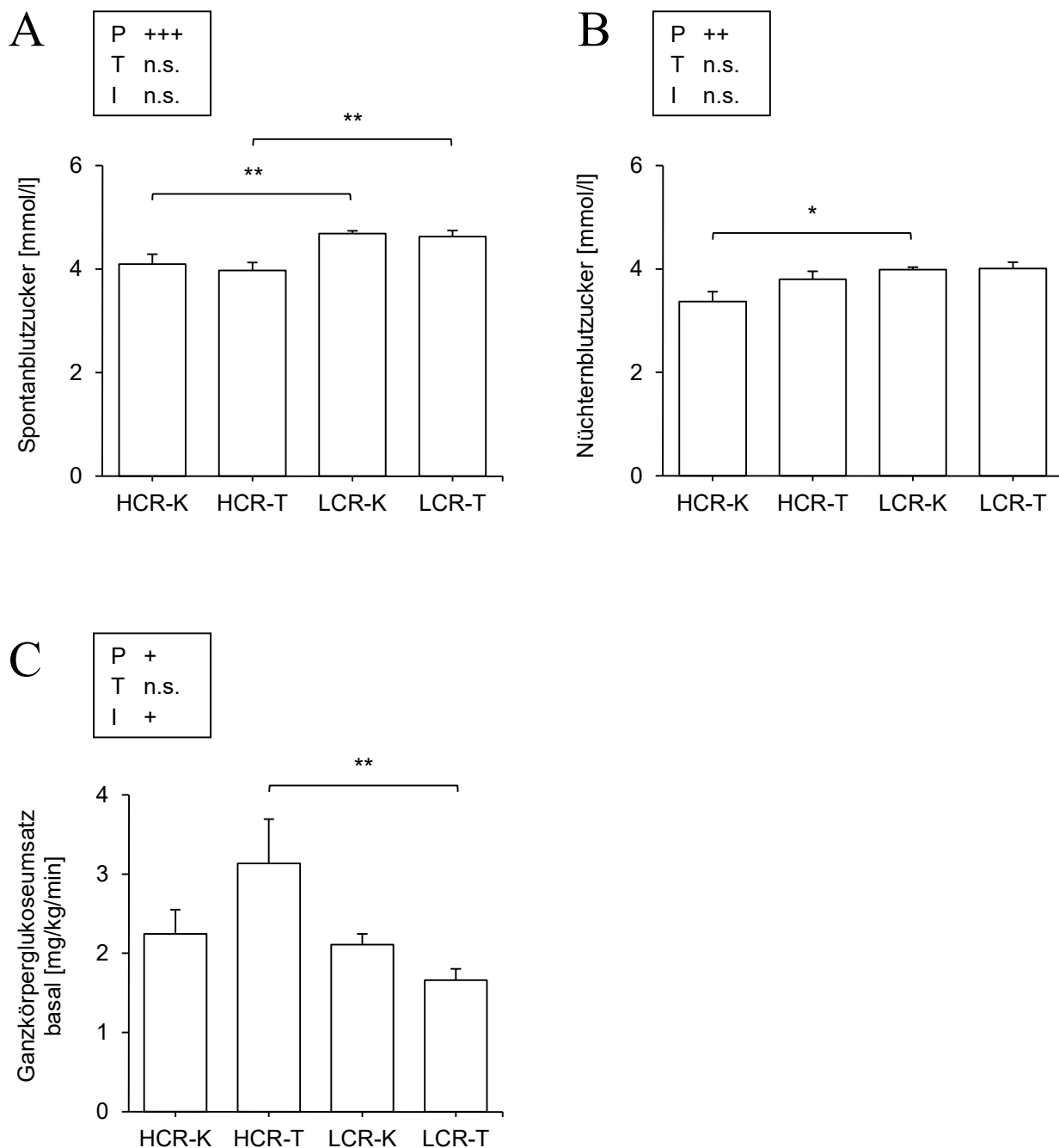


Abbildung 18: Echokardiographische Charakterisierung: (A) HF - Herzfrequenz; (B) FS - Verkürzungsfraction; (C) EF - Ejektionsfraction; (D) E/A - E-Welle/A-Welle und (E) E/E' - E-Welle/E'-Welle von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 8-11$  pro Gruppe.

### 5.2.5 Glukosestoffwechsel

Abbildung 19 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf den Spontan- und Nüchternblutzuckerspiegel sowie die mit Hilfe der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme ermittelten Parameter für den basalen Glukosestoffwechsel von HCR und LCR. Das Ausdauertraining hatte keinen Einfluss auf den erhöhten Spontanblutzuckerspiegel (Abb. 19A) und den erhöhten Nüchternblutzuckerspiegel (Abb. 19B) von LCR. Trainierte LCR fielen durch einen höheren Spontanblutzuckerspiegel als trainierte HCR auf.

Bei LCR kam es zu einer Reduktion des Ganzkörperglukoseumsatzes und der hepatischen Glukoseproduktion durch das Ausdauertraining (21,3 %; n.s.) (Abb. 19C). Trainierte HCR zeigten einen höheren Ganzkörperglukoseumsatz und eine höhere hepatische Glukoseproduktion als trainierte LCR. Die Interaktion zwischen Population und Training beeinflusste den Ganzkörperglukoseumsatz signifikant.



**Abbildung 19: Basaler Glukosestoffwechsel:** (A) Spontanblutzuckerspiegel; (B) Nüchternblutzuckerspiegel und (C) Ganzkörperglukoseumsatz von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; ++  $p < 0,01$ ; +++  $p < 0,001$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 7-10$  pro Gruppe; Ganzkörperglukoseumsatz basal entspricht hepatischer Glukoseproduktion basal in mg/kg/min.

Abbildung 20 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf die mit Hilfe der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme ermittelten Parameter des insulinstimulierten Glukosestoffwechsels von HCR und LCR.

Die Glukoseinfusionsrate (Abb. 20A) und der Ganzkörperglukoseumsatz (Abb. 20B) haben sich unter Insulinstimulation bei HCR und LCR durch das Ausdauertraining nicht verändert. Trainierte HCR zeigten eine höhere Glukoseinfusionsrate als trainierte LCR. Das Ausdauertraining hatte auch keinen Einfluss auf die Glykolyserate (Abb. 20C) und die insulinstimulierte Suppression der hepatischen Glukoseproduktion (Abb. 20D) von HCR und LCR.

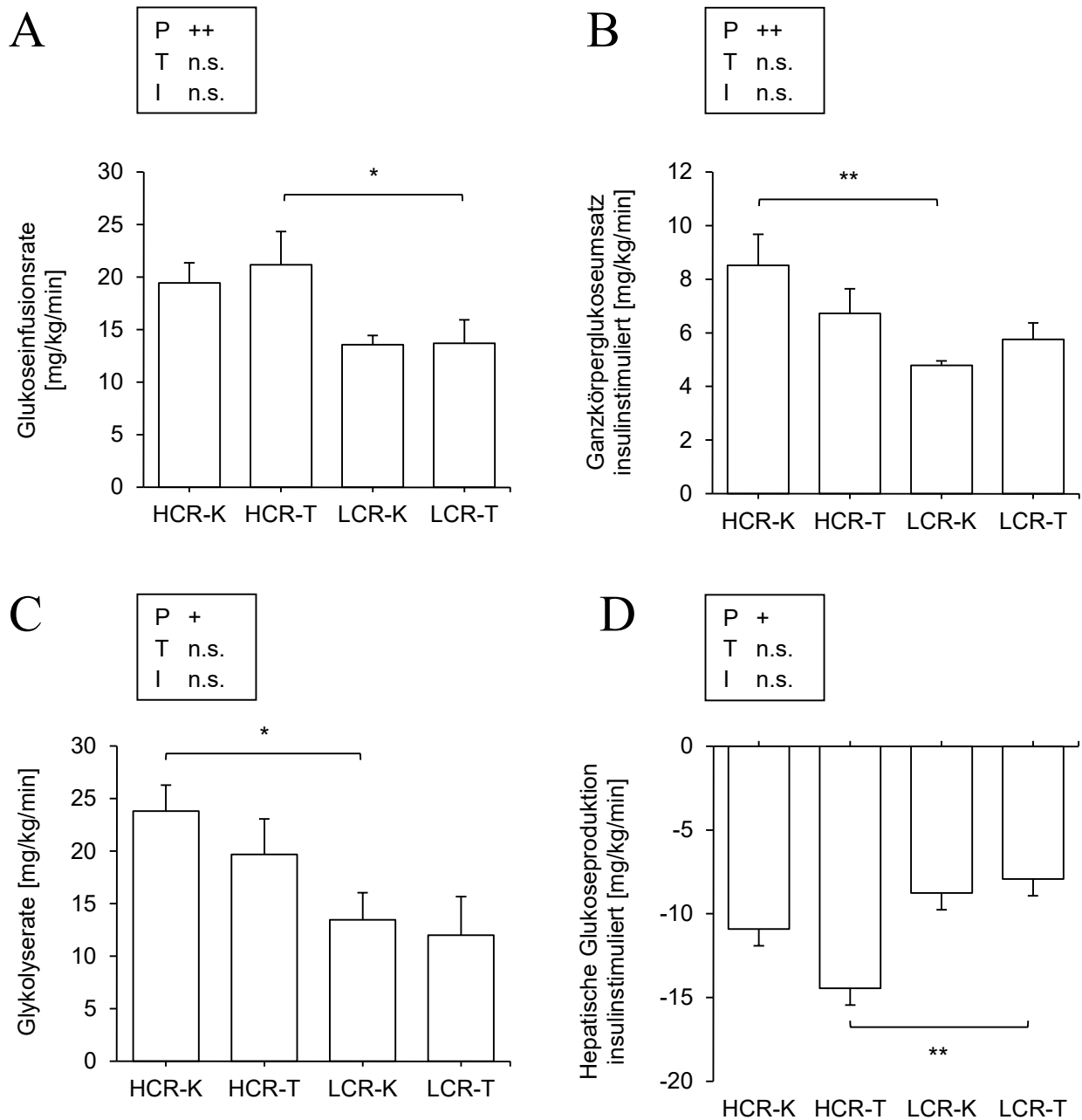
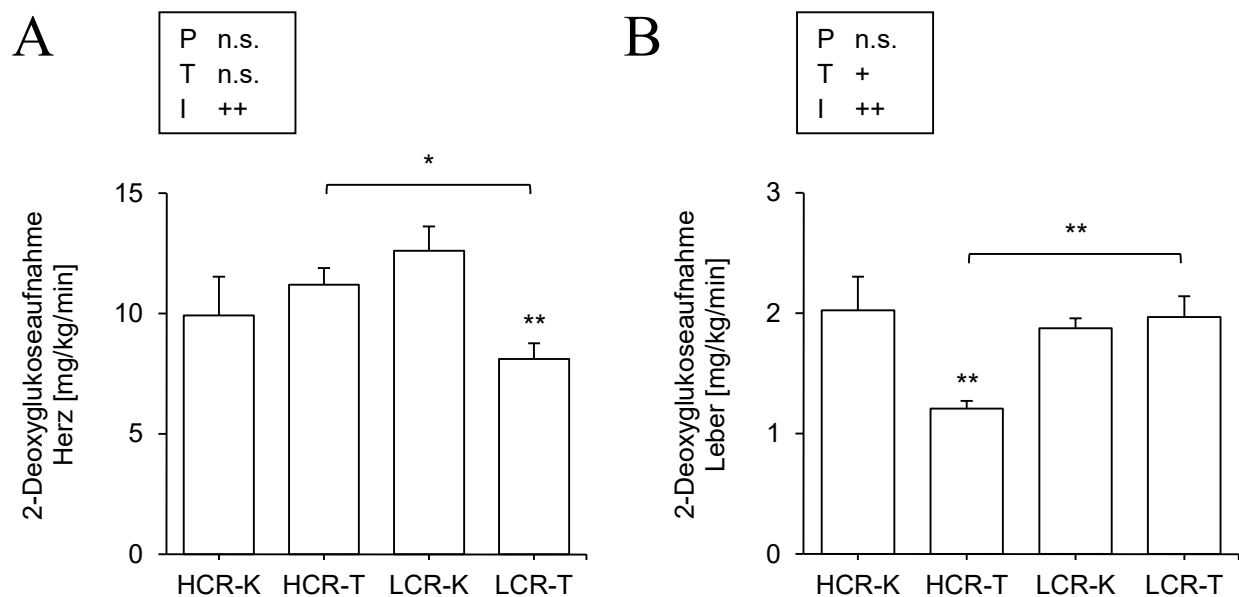


Abbildung 20: Insulinstimulierter Glukosestoffwechsel: (A) Glukoseinfusionsrate; (B) Ganzkörperglukoseumsatz; (C) Glykolyserate und (D) hepatische Glukoseproduktion von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T); MW  $\pm$  SEM; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; ++  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 7-10$  pro Gruppe.

Abbildung 21 zeigt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe von HCR und LCR. Das Ausdauertraining führte zu einer Abnahme der 2-Deoxyglukoseaufnahme im Herz (Abb. 21A) (35,6 %;  $p < 0,01$ ) von LCR und in der Leber (Abb. 21B) (40,4 %;  $p < 0,01$ ) von HCR. Keine Veränderungen fanden sich in der 2-Deoxyglukoseaufnahme der Mm. solei (Abb. 21D) bei beiden Gruppen.

Zu einer Steigerung der 2-Deoxyglukoseaufnahme kam es im Hodenfett (Abb. 21E) (106 % vs. 40,7 %) bei HCR und LCR und in den Mm. gastrocnemii (Abb. 21C) (58,5 %;  $p < 0,01$ ) nur bei HCR. Trainierte HCR fielen durch eine höhere 2-Deoxyglukoseaufnahme im Herz, in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett im Vergleich zu trainierten LCR auf. Die Interaktion zwischen Population und Training beeinflusste die 2-Deoxyglukoseaufnahme im Herz, in der Leber und in den Mm. gastrocnemii signifikant.



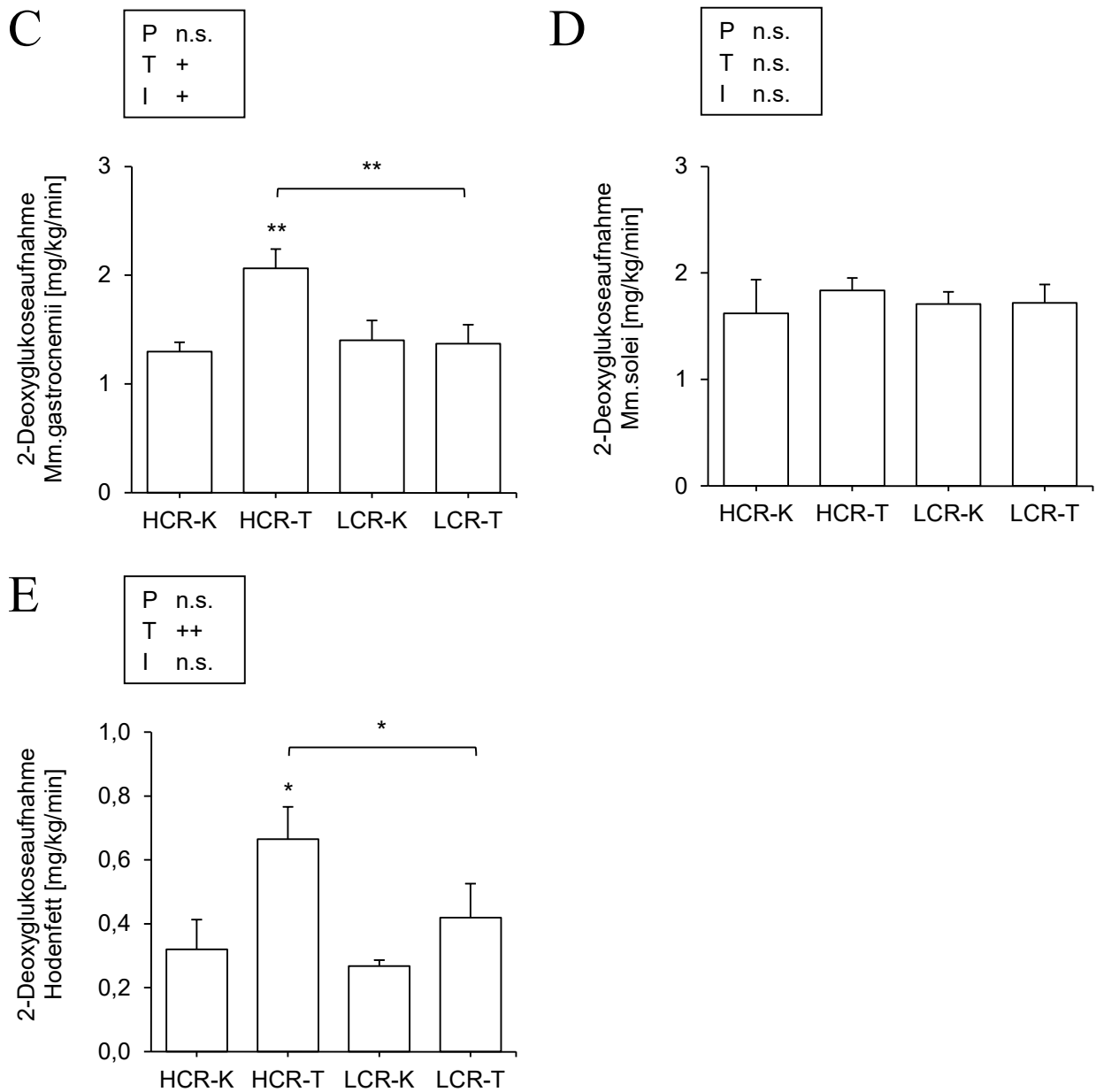


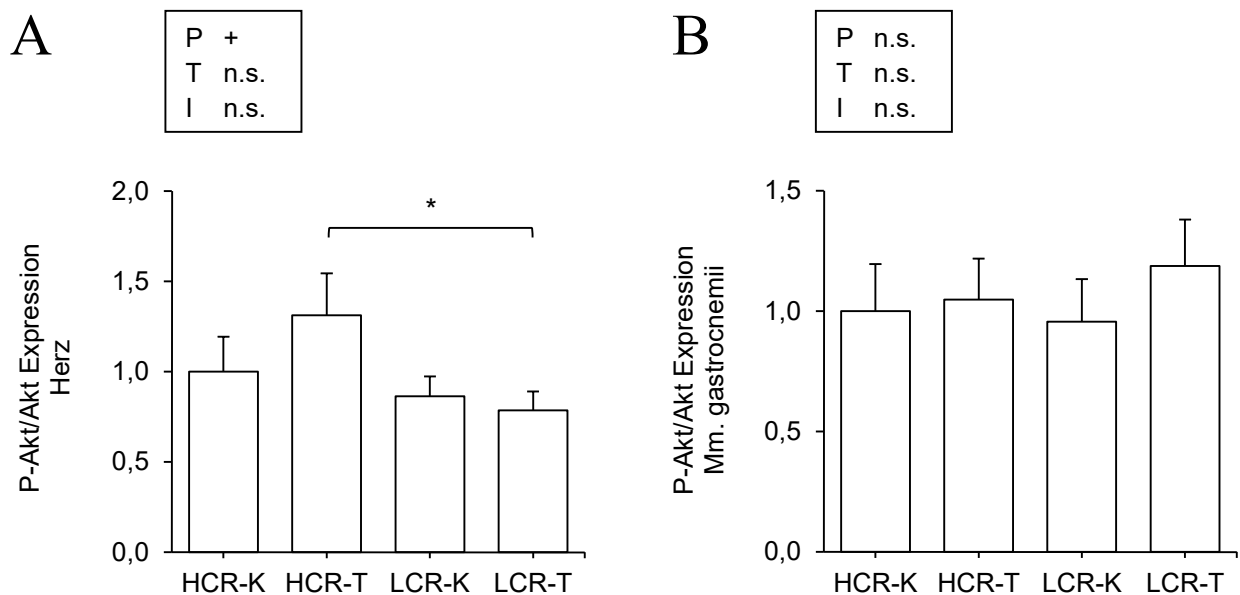
Abbildung 21: Insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglucoseaufnahme: (A) Herz; (B) Leber; (C) Mm. gastrocnemii; (D) Mm. solei und (E) Hodenfett von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T);  $MW \pm SEM$ ; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ; ++  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  vs. untrainierte Gruppe bzw. wie angezeigt;  $n = 6-9$  pro Gruppe.



### 5.2.6 Proteinkinase B/Akt von Herz, Mm. gastrocnemii und Hodenfett

Abbildung 22 stellt den Einfluss des vierwöchigen aeroben Intervalltrainings auf den Phosphorylierungsstatus von Akt im Herz, in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett von untrainierten und trainierten HCR und LCR dar. Der Phosphorylierungsstatus von Akt im Herz (Abb. 22A), in den Mm. gastrocnemii (Abb. 22B) und im Hodenfett (Abb. 22C) zeigte keine Unterschiede zwischen untrainierten HCR und LCR.

Das Ausdauertraining hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Phosphorylierungsstatus von Akt bei HCR und LCR. Trainierte HCR fielen durch einen höheren Phosphorylierungsstatus von Akt im Herz im Vergleich zu trainierten LCR auf.



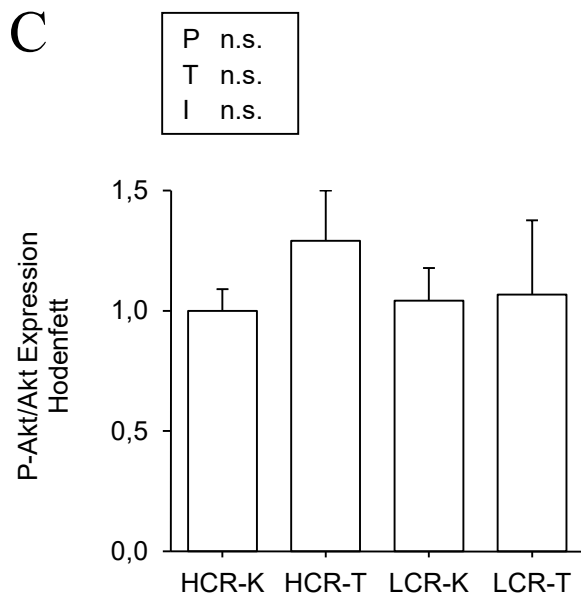


Abbildung 22: Phosphorylierungsstatus der Proteinkinase B/Akt: Verhältnis P-Akt zu Akt (A) Herz; (B) *Mm. gastrocnemii* und (C) Hodenfett von untrainierten HCR (HCR-K) und LCR (LCR-K) sowie von trainierten HCR (HCR-T) und LCR (LCR-T);  $MW \pm SEM$ ; P - Population; T - Training; I - Interaktion; +  $p < 0,05$ ;  $n = 8-10$  pro Gruppe.

## 6 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass sich Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit in den phänotypischen Merkmalen: Körper- und Organgewichte, Tibiallänge, kardiale Morphologie und Funktion sowie im Glukosestoffwechsel unterscheiden. LCR sind im Vergleich zu HCR durch eine verminderte systemische Insulinempfindlichkeit gekennzeichnet. Das für die vorliegende Arbeit durchgeführte vierwöchige aerobe Intervalltraining verbesserte die Insulinempfindlichkeit von HCR, jedoch nicht von LCR. Nur bei HCR kam es zu einer Zunahme der organspezifischen Insulinempfindlichkeit in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett.

Untersucht wurden HCR und LCR Ratten der 28. Generation. HCR wiesen einen athletischen Phänotyp mit einer deutlich höheren körperlichen Leistungsfähigkeit als LCR auf. Dieses Ergebnis ist das wesentliche Charakteristikum des HCR/LCR-Rattenmodells. Während die 6. HCR/LCR-Generation einen Unterschied in der maximalen Laufstrecke von 171 % zeigte (Koch und Britton 2001), so waren es in der von uns untersuchten 28. Generation bereits 858 %. Im Gegensatz zu den athletischen HCR waren LCR durch einen diabetischen Phänotyp mit starkem Übergewicht gekennzeichnet. Ein Grund für das Übergewicht von LCR ist der auffallend hohe Anteil des Fettgewebes am Körpergewicht der Ratten. Dies wird auch durch andere Arbeitsgruppen, die wie wir ein höheres absolutes und relatives Gewicht für das Hodenfett bei LCR nachwiesen, bekräftigt (Noland et al. 2007, DeMarco et al. 2012, Stephenson et al. 2013). Bei Ratten gehört das Hodenfett, das auch als gonadales Fettgewebe bezeichnet wird, zu den größten Fettdepots des Körpers. Eine Zunahme des Fettgewebes, besonders im Bereich von viszeralen Depots, steht in Verbindung mit einem höheren Risiko für metabolische Erkrankungen und Mortalität (Bjørndal et al. 2011). Faktoren wie eine geringere körperliche Aktivität und ein geringerer Energieumsatz sowohl in Ruhe als auch in Bewegung sind wahrscheinliche Gründe für den höheren Fettgewebsanteil von LCR im Vergleich zu HCR (Novak et al. 2009). In einer Studie von Wisløff et al. wurden junge HCR und LCR Ratten im Alter von fünf Wochen untersucht. Interessanterweise gab es in diesem Alter keine Unterschiede in Bezug auf das Körpergewicht und das Gewicht des viszeralen Fettgewebes zwischen den beiden Gruppen. Im Gegensatz dazu zeigten 5 Wochen alte LCR bereits höhere Glukose- und Triglyceridspiegel im

Blutplasma als gleichaltrige HCR (Wisløff et al. 2005). Zu vermuten ist, dass metabolische Störungen dem Übergewicht von LCR vorausgehen und die oben genannten Faktoren geringe körperliche Aktivität und geringer Energieumsatz die Gewichtszunahme verstärken.

Das höhere Körpergewicht von LCR im Vergleich zu HCR wird auch durch das höhere absolute Gewicht der Mm. gastrocnemii und der Mm. solei von LCR bedingt. Es ist jedoch zu beachten, dass der Anteil dieser Skelettmuskeln am Körpergewicht bei LCR geringer war als bei HCR. Dafür ist vermutlich das wesentlich höhere Körpergewicht von LCR, das diese aufgrund des höheren Fettgewebsanteils haben, die Ursache. In der Literatur existieren insgesamt nur sehr wenige Angaben zum Gewicht der Organe und Gewebe von HCR und LCR. Unsere Ergebnisse zeigen genauso wie andere Studien, dass das Gewicht der Skelettmuskulatur von LCR, speziell der Mm. gastrocnemii, höher ist als bei HCR (Howlett et al. 2003, Gonzalez et al. 2006, Howlett et al. 2009). In der 7. HCR/LCR-Generation wurde das geringere Gewicht der Mm. gastrocnemii von HCR auf einen geringeren Muskelfaserquerschnitt bei gleicher Anzahl an Muskelfasern zurückgeführt (Howlett et al. 2003). Vergleichbare Beobachtungen wurden auch bei anderen Tiermodellen gemacht. Die Muskulatur der Hintergliedmaßen von selektiv gezüchteten Mäusen mit einer hohen intrinsischen Aktivität im Laufrad ist ebenso durch ein geringeres Gewicht im Vergleich zur Kontrollgruppe gekennzeichnet. Das geringere Muskelgewicht wird bei diesen Tieren durch eine höhere spezifische Aktivität oxidativer Enzyme und daraus folgend durch eine höhere aerobe Kapazität kompensiert (Houle-Leroy et al. 2003). Die aktuelle Studienlage belegt auch für die Skelettmuskulatur von HCR eine höhere spezifische Aktivität oxidativer Enzyme wie Citratsynthase,  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase und Phosphofruktokinase (Howlett et al. 2003, Lessard et al. 2011, Stephenson et al. 2012). Für die Hexokinase fanden sich dagegen keine Unterschiede zwischen HCR und LCR (Howlett et al. 2003). Man kann schlussfolgern, dass auch bei HCR die geringere Masse der Skelettmuskulatur durch eine höhere aerobe Kapazität kompensiert wird.

Eine vermehrte muskuläre Fetteinlagerung kann ebenso als Ursache für die höheren Gewichte der Mm. gastrocnemii und der Mm. solei von LCR in Betracht gezogen werden. Diesbezüglich wurde in anderen Studien der Fettanteil in der Skelettmuskulatur von HCR und LCR untersucht. Entgegen der Vermutung stellten

Lessard et al. keine Unterschiede in der Einlagerung von Triglyceriden, Diacylglycerinen und Ceramiden im M. quadriceps und in der Einlagerung von Triglyceriden im M. gastrocnemius (roter Muskelfaseranteil) zwischen beiden Gruppen fest (Lessard et al. 2009, Lessard et al. 2011). In der Studie von Rivas et al. wurde sogar eine höhere Einlagerung von Triglyceriden im M. gastrocnemius (roter Muskelfaseranteil) von HCR nachgewiesen (Rivas et al. 2011).

Neben der Skelettmuskulatur und dem Fettgewebe kann auch die Leber als zentrales Stoffwechselorgan von einer vermehrten Fetteinlagerung betroffen sein. LCR hatten ein höheres absolutes Lebergewicht im Vergleich zu HCR. Im Verhältnis zum Körpergewicht stellte sich kein Unterschied dar. Zum gleichen Ergebnis kommen Swallow et al., die weibliche Ratten der 9. und 10. Generation untersuchten (Swallow et al. 2010). Andere Arbeitsgruppen, die sich gezielt mit der Leber von HCR und LCR auseinandersetzten, stellten einen höheren hepatischen Triglyceridgehalt bei LCR fest (Thyfault et al. 2009, Bowman et al. 2010). Angaben zum Lebergewicht findet man in diesen Arbeiten nicht. Zu vermuten ist, dass bei LCR das höhere absolute Gewicht der Leber durch einen höheren Triglyceridgehalt bedingt wird.

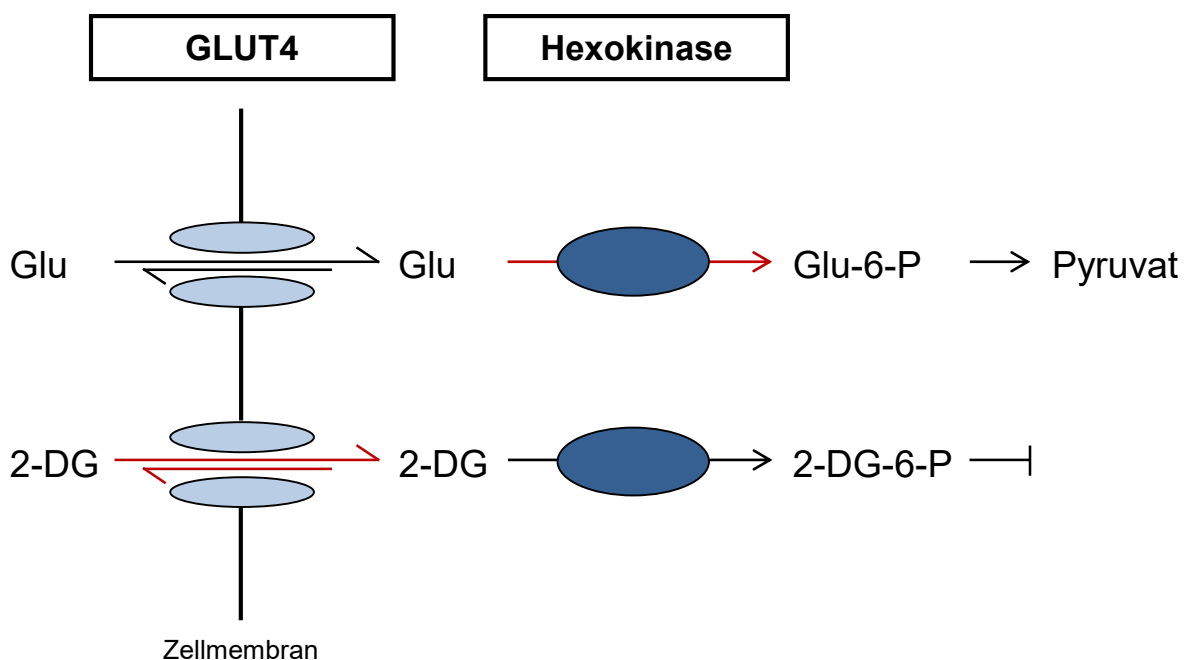
Zusammengenommen ist deutlich zu erkennen, dass LCR im Vergleich zu HCR durch die Risikofaktoren Übergewicht und ausgeprägte viszerale Fettdepots charakterisiert sind. Besonders die Zunahme des viszeralen Fettgewebes scheint eine wichtige Rolle in der Ätiologie der Insulinresistenz und des Diabetes mellitus Typ 2 zu spielen (Gallagher et al. 2009). LCR wiesen einen diabetischen Phänotyp mit höherem Spontan- und Nüchternblutzuckerspiegel im Vergleich zu HCR auf. Diese Ergebnisse entsprachen durchaus den Erwartungen und stehen im Einklang mit zahlreichen weiteren Studien am HCR/LCR-Rattenmodell. Zudem belegen viele Autoren eine eingeschränkte systemische Insulinempfindlichkeit bei LCR, die sie mit Hilfe von Glukose- und Insulintoleranztests bestimmt oder anhand des HOMA-Index berechnet haben (Wisløff et al. 2005, Noland et al. 2007, Bikman et al. 2009, Lessard et al. 2009, Morris et al. 2009, Bowman et al. 2010, Naples et al. 2010, Rivas et al. 2011, Stephenson et al. 2012, Ritchie et al. 2013). Der Goldstandard zur direkten Bestimmung der systemischen Insulinempfindlichkeit in vivo ist jedoch die hyperinsulinäme, euglykämie Klemme. Diese Methode wurde erstmalig am HCR/LCR-Rattenmodell in der vorliegenden Arbeit durchgeführt. Die hier ermittelte Glukoseinfusionsrate spiegelt die systemische Insulinempfindlichkeit wieder. HCR

hatten eine höhere Glukoseinfusionsrate im Vergleich zu LCR. Zudem lassen sich gezielte Aussagen zum insulinstimulierten Ganzkörperglukoseumsatz und zur insulinstimulierten Glykolyserate treffen. Beide Parameter waren ebenso bei HCR höher. Zusammengenommen bekräftigen diese Ergebnisse die Aussage, dass LCR durch eine systemische Insulinresistenz charakterisiert sind.

Weiter ins Detail gehen die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zur Insulinempfindlichkeit einzelner Organe und Gewebe. Entgegen unseren Erwartungen wurden zwischen HCR und LCR keine Unterschiede für die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe und Gewebe festgestellt. Dieses Ergebnis ist durchaus kritisch zu betrachten. Die aktuelle Literatur zu dieser Thematik ist sehr begrenzt. Es existieren zwei Studien, die mit anderen Methoden die Glukoseaufnahme in vitro für den M. gastrocnemius und den M. soleus untersuchten. In der Studie von Rivas et al. war die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]-Glukoseaufnahme und -oxidation des M. gastrocnemius von HCR höher im Vergleich zu LCR (Rivas et al. 2011). Ebenso konnte für den M. soleus von HCR in der Studie von Stephenson et al. eine höhere insulinstimulierte [ $^3\text{H}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme im Vergleich zu LCR festgestellt werden (Stephenson et al. 2012). Auch der insulinstimulierte Glukosetransport, der den ersten Abschnitt der Glukoseaufnahme widerspiegelt, zeigte für den M. soleus von HCR höhere Raten im Vergleich zu LCR (Lessard et al. 2011). Auf der Grundlage dieser Ergebnisse war auch für unsere Untersuchungen eine höhere insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme einzelner Organe und Gewebe von HCR zu erwarten. Da diese Erwartungen nicht bestätigt wurden, verglichen wir zur genaueren Einschätzung unserer Ergebnisse den Ganzkörperglukoseumsatz, der mit dem echten Glukosetracer tritiummarkierter Glukose (3HG) gemessen wurde, mit der Ganzkörperglukoseaufnahme, die mit dem Glukosetraceranalogon [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukose (2DG) berechnet wurde. Die beiden Parameter unterschieden sich deutlich. Während der mit 3HG gemessene Ganzkörperglukoseumsatz bei HCR höher im Vergleich zu LCR war, zeigte die mit 2DG berechnete Ganzkörperglukoseaufnahme keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Zur Interpretation dieser Ergebnisse ist das Verständnis über die Mechanismen der zellulären Glukoseaufnahme von großer Bedeutung. Die Glukoseaufnahme setzt sich aus den zwei Abschnitten Glukosetransport und anschließender Phosphorylierung

zusammen. Das Glukoseanalogon 2-Deoxyglukose (2DG) wird wie Glukose durch spezielle Transportmoleküle, sogenannte Glukosetransporter (GLUT), in die Zellen aufgenommen und durch das Enzym Hexokinase phosphoryliert. 2-Deoxyglukose-6-Phosphat kann im Gegensatz zu Glukose-6-Phosphat nicht in die Glykolyse eingeschleust werden und akkumuliert in der Zelle (Abb. 23) (Sokoloff et al. 1977, Jacobs et al. 1990).



*Abbildung 23: Schematische Darstellung der zellulären Glukoseaufnahme; GLUT4 - Glukosetransporter 4; Glu - Glukose; 2DG - 2-Deoxyglukose; Glu-6-P - Glukose-6-Phosphat; 2DG-6-P - 2-Deoxyglukose-6-Phosphat; rote Pfeile kennzeichnen höhere Affinität.*

Durch die radioaktive Markierung von 2-Deoxyglukose mit  $^{14}\text{C}$  kann die Glukoseaufnahme einzelner Organe und Gewebe durch die Messung der intrazellulären Radioaktivität quantifiziert werden (Jacobs et al. 1990). Problematisch ist jedoch, dass gewisse kinetische Unterschiede in Bezug auf den Transport und die Phosphorylierung zwischen Glukose und 2-Deoxyglukose bestehen, die zu Abweichungen in der Quantifizierung der Glukoseaufnahme führen können (Russell

et al. 1992, Doenst und Taegtmeyer 1998a, Doenst und Taegtmeyer 2000). Der Glukosetransport über die GLUTs stellt unter basalen Bedingungen den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Glukoseaufnahme dar (Fueger 2005). Zudem haben die Glukosetransporter eine höhere Affinität für 2DG im Vergleich zu Glukose (Abb. 23; roter Doppelpfeil) (Crane et al. 1983). Unter Insulinstimulation werden vermehrt Glukosetransporter in die Zellmembranen eingebaut und die Phosphorylierung durch die Hexokinase wird zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt (Fueger 2005). Die Hexokinase hat eine höhere Affinität für Glukose als für 2DG (Abb. 23; roter Pfeil) (Doenst et al. 1998). Daraus folgend wird Glukose bevorzugt als Substrat verwendet. Es liegt somit nahe, dass unter Insulinstimulation die tatsächliche Glukoseaufnahme durch die Verwendung des Glukoseanalogons 2DG unterschätzt wird. Bekräftigt wird diese Annahme durch andere Autoren (Doenst und Taegtmeyer 1998a, Doenst und Taegtmeyer 1998b, Doenst und Taegtmeyer 2000). Eine höhere Insulinempfindlichkeit, wie sie bei HCR nachweislich systemisch vorliegt, und daraus folgend eine höhere Insulinwirkung an den Zielorganen, verstärkt mit großer Wahrscheinlichkeit die beschriebene Problematik. Vermutlich führt das zu einer größeren Unterschätzung der insulinstimulierten Glukoseaufnahme bei HCR im Vergleich zu LCR. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Unterschiede zwischen dem mit 3HG gemessenen Glukoseumsatz und der mit 2DG berechneten Ganzkörperglukoseaufnahme durch die kinetischen Unterschiede zwischen Glukose und 2DG in der zellulären Aufnahme bedingt werden. Somit liegen zwischen HCR und LCR mit großer Wahrscheinlichkeit Unterschiede in der tatsächlichen insulinstimulierten Glukoseaufnahme einzelner Organe und Gewebe vor. Diese konnten jedoch auf Grund der erläuterten methodischen Grenzen nicht nachgewiesen werden. Ein alternativer Tracer mit einem zu Glukose identischen kinetischen Verhalten existiert zurzeit nicht. Demzufolge sind weitere gezielte Untersuchungen notwendig, um konkretere Aussagen über die Insulinempfindlichkeit einzelner Organe und Gewebe von HCR und LCR treffen zu können.

In der vorliegenden Arbeit wurde zusätzlich zu dem Vergleich von wichtigen phänotypischen Merkmalen bei HCR und LCR auch der Einfluss eines Ausdauertrainings auf diese Merkmale untersucht. Ein körperliches Training auf einem Laufband wird als die Methode beschrieben, die ein präzises, einheitliches und gut kontrollierbares Training gewährleistet (Wang et al. 2010). Das von uns eingesetzte aerobe Intervalltraining mit hoher Intensität auf einem Laufband mit 25°



Steigung hat im Vergleich zu anderen Trainingsformen nachgewiesenermaßen den größten Effekt auf die körperliche Leistungsfähigkeit und auf kardiovaskuläre Risikofaktoren (Wisløff et al. 2001, Kemi et al. 2005, Haram et al. 2009).

Das Ausdauertraining führte sowohl bei HCR als auch bei LCR zu einer Körpergewichts- und Hodenfettreduktion, die jedoch bei HCR deutlich stärker ausgeprägt war. Damit besteht Grund zur Annahme, dass HCR im Vergleich zu LCR besser auf das von uns eingesetzte Ausdauertraining ansprachen. Zwei weitere Studien, die ebenso am HCR/LCR-Rattenmodell ein aerobes Intervalltraining mit hoher Intensität auf einem Laufband mit 25° Steigung durchführten, kommen zu der gleichen Schlussfolgerung (Wisløff et al. 2005, Bye et al. 2008). Für die unterschiedliche Ansprechbarkeit scheint der genetische Hintergrund der Tiere verantwortlich zu sein, da einwirkende Umwelteinflüsse für beide Gruppen vergleichbar waren. Diese Annahme wird durch Studien, die die Wirksamkeit eines Ausdauertrainings bei monozygoten Zwillingen untersuchten, bekräftigt. Die Autoren kommen zu der Erkenntnis, dass die Ansprechbarkeit auf ein Ausdauertraining in hohem Maße vom Genotyp abhängig ist (Prud'homme et al. 1984, Hamel et al. 1986).

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen zeigen in zwei anderen Studien nur LCR eine Körpergewichts- und Hodenfettreduktion, HCR dagegen nicht (Lessard et al. 2011, Stephenson et al. 2013). Die in diesen Studien eingesetzte Trainingsform ist ein wesentliches Kriterium für die abweichenden Ergebnisse. Sowohl Lessard et al. als auch Stephenson et al. wählten ein sechswöchiges kontinuierliches Training auf einem Laufband mit 15° Steigung, bei dem die Trainingszeit und -geschwindigkeit stufenweise pro Trainingstag gesteigert wurde. HCR und LCR absolvierten auf diese Weise die gleiche absolute Trainingsstrecke. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass der Trainingsstimulus für HCR im Vergleich zu LCR zu schwach war, um einen Trainingseffekt zu erreichen.

Neben der geringeren Ansprechbarkeit von LCR auf ein Ausdauertraining ist ebenso zu diskutieren, ob die von uns mit Hilfe des Lauftests ermittelte intrinsische körperliche Leistungsfähigkeit bei LCR unterschätzt wurde. Unseren Beobachtungen zufolge waren bei LCR die Laufbereitschaft und die Schmerzempfindlichkeit in Bezug auf die Elektroimpulsabgabe am Ende des Laufbandes deutlich geringer ausgeprägt als bei HCR. Um eine Fehleinschätzung der Erschöpfung zu vermeiden und die

tatsächliche maximale körperliche Leistungsfähigkeit möglichst genau zu ermitteln, wurden die Abbruchkriterien des Lauftests und des körperlichen Trainings an die genannten Eigenschaften von LCR angepasst und damit strenger formuliert.

Zusätzlich zu dem unterschiedlichen Einfluss des Ausdauertrainings auf Körper- und Hodenfettgewicht bei HCR und LCR kam es in unserer Studie auch zu abweichenden Veränderungen in Bezug auf die Gewichte der Mm. gastrocnemii und Mm. solei. Nur bei HCR führte das Ausdauertraining zu einer Gewichtsreduktion der Mm. gastrocnemii und nur bei LCR zu einer Gewichtsreduktion der Mm. solei. Die Masse eines Skelettmuskels wird durch das Verhältnis von Proteinaufbau und -abbau bestimmt (Sandri 2008). Demzufolge ist ein im Verlauf einer Trainingsphase eintretender Muskelabbau ein Hinweis auf eine negative Proteinbilanz. Picosky et al. führten Untersuchungen zum muskulären Proteinumsatz bei Menschen nach einem vierwöchigen Ausdauertraining durch. Alle Probanden erhielten über die gesamten 4 Wochen hinweg die gleiche Nahrung mit einer konstanten Proteinmenge. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass das Ausdauertraining zu einer negativen Proteinbilanz führte. Als eine Ursache sehen sie eine zu geringe Menge mit der Nahrung aufgenommener Proteine an (Picosky et al. 2006). Howarth et al. belegen, dass die Aufnahme einer proteinreichen Nahrung nach einem Ausdauertraining die muskuläre Proteinsynthese bei Menschen steigert (Howarth et al. 2009). Demzufolge ist zu vermuten, dass eine an das körperliche Training angepasste proteinreiche Ernährung den Muskelabbau bei den von uns untersuchten HCR und LCR hätte verhindern können und die Trainingsergebnisse hätte positiv beeinflussen können. Eine Überbelastung der Tiere, bei der ein Ungleichgewicht zwischen Belastungs- und Erholungsfaktoren vorliegt und die durch einen unerwarteten Leistungseinbruch gekennzeichnet ist (Vogel 2001), wurde innerhalb der vierwöchigen Trainingsphase bei HCR und LCR nicht beobachtet und kann somit als Ursache für den Muskelabbau ausgeschlossen werden.

Ein Ausdauertraining ist, wie in zahlreichen Studien nachgewiesen, ein potenter Stimulus, um die Insulinempfindlichkeit bei Ratten und auch bei Menschen zu verbessern (Hawley 2004, Hawley und Lessard 2008, Maarbjer et al. 2011). In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig mit Hilfe der hyperinsulinämen, euglykämischen Klemme der Einfluss von Ausdauertraining sowohl auf die systemische als auch auf

die organspezifische Insulinempfindlichkeit von Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit untersucht.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass das von uns eingesetzte Ausdauertraining bei beiden Gruppen keinen signifikanten Einfluss auf den Spontan- und Nüchternblutzuckerspiegel und auf die basale Ganzkörperglukoseaufnahme hatte. Untersuchungen von Lessard et al. und Stephenson et al., die ein sechswöchiges kontinuierliches Training bei HCR und LCR durchgeführt haben, kommen in Bezug auf den Nüchternblutzuckerspiegel zu dem gleichen Ergebnis. Dieser zeigte bei HCR und LCR keine Veränderungen (Lessard et al. 2011, Stephenson et al. 2013). Im Gegensatz dazu kam es jedoch bei beiden Gruppen zu einer Reduktion des Nüchterninsulinspiegels (Stephenson et al. 2013). Dieser Parameter wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Haram et al. führten über acht Wochen hinweg nur mit LCR ein Intervalltraining im Vergleich zu einem kontinuierlichen Training durch. Beide Trainingsformen führten zu einer Reduktion des Nüchternblutzuckerspiegels bei LCR. Zudem kam es zu einer Verbesserung der Glukosetoleranz, die mit Hilfe eines oralen Glukosetoleranztests bestimmt wurde (Haram et al. 2009). Auffällig ist, dass im Vergleich zu den drei genannten Studien die von uns gemessenen Nüchternblutzuckerspiegel sowohl für die untrainierten als auch für die trainierten Tiere bei beiden Gruppen deutlich geringer waren. Unterschiede liegen in der Nüchternzeit und vermutlich auch im Blutentnahmeort, der jedoch bei zwei Studien nicht explizit angegeben war.

In der Literatur existieren bisher keine Daten in Bezug auf den Einfluss eines Ausdauertrainings auf die systemische Insulinempfindlichkeit von HCR. Bei LCR ist, wie oben bereits erwähnt zumindest eine Verbesserung der systemischen Glukosetoleranz nachgewiesen (Haram et al. 2009). Entgegen unserer Erwartungen hatte das von uns durchgeführte Ausdauertraining keinen signifikanten Einfluss auf die insulinstimulierte Glukoseinfusionsrate, den Ganzkörperglukoseumsatz, die Glykolyserate und hepatische Glukoseproduktion bei HCR und LCR. Anhand dieser Ergebnisse kann eine Verbesserung der systemischen Insulinempfindlichkeit nicht geschlussfolgert werden. Das fortgeschrittene Alter der Tiere, die HCR/LCR-Generation und die durchgeführte Trainingsform sind hierfür als Ursachen zu diskutieren. Die organspezifische Insulinempfindlichkeit wurde in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett zumindest bei HCR verbessert. Diese Gewebe sind

entscheidend für die systemische Insulinempfindlichkeit. Dementsprechend ist es unwahrscheinlich, dass die Ratten im Alter von 36-41 Wochen bereits zu alt waren, um ihre systemische Insulinempfindlichkeit zu verbessern. Zudem zeigt eine Studie von Tan et al., dass die Insulinempfindlichkeit sogar bei älteren Menschen ( $65,9 \pm 4,2$  Jahre) mit langjährigem Diabetes mellitus Typ 2 durch ein körperliches Training verbessert werden kann (Tan et al. 2012). Auch die fortschreitende Selektion über die Generationen hinweg scheint ein großer Einflussfaktor zu sein. Howlett et al. stellten fest, dass mit steigender Generation die Unterschiede zwischen HCR und LCR in Bezug auf die körperliche Leistungsfähigkeit und in Bezug auf gewisse strukturelle und funktionelle Eigenschaften des M. gastrocnemius verstärkt werden (Howlett et al. 2009). Mit großer Wahrscheinlichkeit trifft diese Verstärkung der Unterschiede auch für andere phänotypische Merkmale zu. Dementsprechend besteht Grund zur Annahme, dass mit steigender HCR/LCR-Generation der Einfluss der Umweltfaktoren, wie ein Ausdauertraining, auf den Phänotyp haben, im Vergleich zu dem Einfluss von genetischen Faktoren, geringer wird. Für LCR würde das konkret bedeuten, dass eine Verbesserung der beeinträchtigten Insulinempfindlichkeit durch ein Ausdauertraining mit steigender Generation zunehmend schwerer wird. Zudem spielt die Trainingsform eine bedeutende Rolle. Von einem ineffektiven Training als Ursache für die nicht eingetretene Verbesserung der systemischen Insulinempfindlichkeit kann nicht ausgegangen werden, da andere von uns untersuchte phänotypische Merkmale bei beiden Gruppen durch das körperliche Training deutlich beeinflusst wurden. Zudem wurde von Haram et al. die Wirksamkeit des aeroben Intervalltrainings mit hoher Intensität auf einem Laufband mit 25° Steigung nachgewiesen (Haram et al. 2009). Zu beachten ist jedoch, dass die Studie von Haram et al. nur mit LCR durchgeführt wurde und dass keine Untersuchungen zur systemischen und organspezifischen Insulinempfindlichkeit erfolgt sind.

Wie zuvor kurz angesprochen spielen die Skelettmuskulatur und das Fettgewebe eine entscheidende Rolle für die systemische Insulinempfindlichkeit. Die Skelettmuskulatur leistet postprandial den größten Beitrag zur insulinstimulierten Glukoseaufnahme (DeFronzo und Tripathy 2009). Dementsprechend ist eine beeinträchtigte Insulinempfindlichkeit der Skelettmuskulatur hauptverantwortlich für die Entwicklung einer Insulinresistenz (DeFronzo und Tripathy 2009). Durch das von uns eingesetzte Ausdauertraining wurde die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-

Deoxyglukoseaufnahme in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett von HCR gesteigert. Daraus kann eine verbesserte Insulinempfindlichkeit dieser Gewebe geschlussfolgert werden. Bei LCR traten dagegen keine Veränderungen ein. Diese Ergebnisse bekräftigen die Annahme, dass HCR im Vergleich zu LCR besser auf das von uns eingesetzte Ausdauertraining ansprachen. In der Literatur sind bisher nur von einer Arbeitsgruppe Daten über den Einfluss eines körperlichen Trainings auf die organspezifische Insulinempfindlichkeit von HCR und LCR zu finden. Lessard et al. untersuchten den Einfluss eines sechswöchigen kontinuierlichen Trainings auf die Insulinempfindlichkeit des M. soleus. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen wurde bei LCR eine Steigerung des insulinstimulierten Glukosetransports nachgewiesen. Bei HCR kam es dagegen zu keinen Veränderungen (Lessard et al. 2011). Zu beachten ist, dass der Glukosetransport nur den ersten Abschnitt der Glukoseaufnahme widerspiegelt. Über die sich anschließende Phosphorylierung und über die Glukoseaufnahme als Gesamtprozess kann demzufolge keine Aussage getroffen werden. Dies erschwert den Vergleich der Ergebnisse.

Zusätzlich zur organspezifischen insulinstimulierten Glukoseaufnahme wurde auch der Phosphorylierungsstatus der Proteinkinase B/Akt untersucht. Diese stellt ein wichtiges Enzym in der Insulinsignalkaskade dar. In den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett fanden sich keine Unterschiede in Bezug auf den Phosphorylierungsstatus von Akt zwischen untrainierten HCR und LCR. Auch das Ausdauertraining hatte keinen signifikanten Einfluss. Weiterführende Untersuchungen sind demzufolge notwendig, um die genauen Mechanismen, die hinter der trainingsbedingten Steigerung der insulinstimulierten [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett stehen, zu entschlüsseln. Dazu gehört vor allem der insulinstimulierte Einbau des insulinabhängigen Glukosetransporters GLUT4 in die Zellmembran. Untersuchungen zu dieser Frage sind bisher am HCR/LCR-Rattenmodell nicht durchgeführt worden.

Nicht nur auf die insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett hatte das Ausdauertraining bei HCR und LCR einen unterschiedlichen Einfluss. Auch für die Leber zeigten sich abweichende Veränderungen. Nur bei HCR führte das körperliche Training zu einer Abnahme der insulinstimulierten [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme der Leber. Zum Verständnis ist der Hinweis wichtig, dass die Glukoseaufnahme in die Leber auch über spezielle

Glukosetransporter erfolgt. In den Hepatozyten ist die Isoform GLUT2, die eine niedrige Affinität zur Glukose besitzt, die wichtigste der GLUT-Familie. Glukose wird insulinunabhängig entlang des Konzentrationsgradienten transportiert und anschließend in den Hepatozyten durch die Glukokinase phosphoryliert. Der Glukosetransport und die intrazelluläre Phosphorylierung sind somit an die Glukosekonzentration im Blut der Vena portae gekoppelt (Püschel et al. 2011). Die durch das Ausdauertraining verminderte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme in der Leber von HCR ist demzufolge auf eine verminderte Glukosekonzentration im Portalblut zurückzuführen. Die gesteigerte insulinstimulierte [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukoseaufnahme der Mm. gastrocnemii und des Hodenfetts von HCR kann hierfür als Ursache in Betracht gezogen werden.

## 7 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass sich Ratten mit hoher (HCR) und niedriger (LCR) intrinsischer körperlicher Leistungsfähigkeit in den phänotypischen Merkmalen: Körper- und Organgewichte, Tibialänge, kardiale Morphologie und Funktion sowie im Glukosestoffwechsel unterscheiden. LCR sind im Vergleich zu HCR durch eine verminderte systemische Insulinempfindlichkeit gekennzeichnet. Das von uns durchgeführte vierwöchige aerobe Intervalltraining mit hoher Intensität verbesserte die Insulinempfindlichkeit bei HCR, jedoch nicht bei LCR. HCR fielen durch eine größere Reduktion des Körpergewichts und des Fettgewebes auf. Nur bei HCR kam es zu einer Zunahme der organspezifischen Insulinempfindlichkeit in den Mm. gastrocnemii und im Hodenfett. Die Ursache ist mit großer Wahrscheinlichkeit in einer genetisch bedingten verminderten Ansprechbarkeit von LCR auf ein Ausdauertraining zu suchen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Wirkung eines Ausdauertrainings auf die Insulinempfindlichkeit durch die intrinsische (genetische) Komponente der körperlichen Leistungsfähigkeit beeinflusst wird.

In weiteren Untersuchungen gilt es zu überprüfen, ob LCR in Bezug auf ihre Insulinempfindlichkeit trotz der verminderten Trainingsansprechbarkeit von einer Optimierung der Trainingsform, speziell der Trainingsdauer und -intensität profitieren. Zudem ist die Gabe einer an das körperliche Training angepassten proteinreichen Nahrung in Betracht zu ziehen. Untersuchungen mit jüngeren Tieren und einer früheren Generation können zusätzlich wichtige Erkenntnisse liefern.

## 8 Literatur- und Quellenverzeichnis

- Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. 2010. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2010:476279.
- Bak JF, Møller N, Schmitz O, Saaek A, Pedersen O. 1992. In vivo insulin action and muscle glycogen synthase activity in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: effects of diet treatment. *Diabetologia*, 35(8):777–84.
- Bikman BT, Woodlief TL, Noland RC, Britton SL, Koch LG, Lust RM, Dohm GL, Cortright RN. 2009. High-fat diet induces Ikk $\beta$  and reduces insulin sensitivity in rats with low running capacity. *International journal of sports medicine*, 30(9):631–35.
- Bjørndal B, Burri L, Staalesen V, Skorve J, Berge RK. 2011. Different adipose depots: their role in the development of metabolic syndrome and mitochondrial response to hypolipidemic agents. *Journal of obesity*, 2011:490650.
- Bouchard C, An P, Rice T, Skinner JS, Wilmore JH, Gagnon J, Périusse L, Leon AS, Rao DC. 1999. Familial aggregation of VO<sub>2</sub>max response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 87(3):1003–8.
- Bouchard C, Daw EW, Rice T, Périusse L, Gagnon J, Province MA, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH. 1998. Familial resemblance for VO<sub>2</sub>max in the sedentary state: the HERITAGE family study. *Medicine and science in sports and exercise*, 30(2):252–58.
- Bouchard C, Lesage R, Lortie G, Simoneau JA, Hamel P, Boulay MR, Périusse L, Thériault G, Leblanc C. 1986. Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. *Medicine and science in sports and exercise*, 18(6):639–46.
- Bouchard C, Rankinen T. 2001. Individual differences in response to regular physical activity. *Medicine and science in sports and exercise*, 33(6 Suppl):S446–51; discussion S452–3.
- Bowman TA, Ramakrishnan SK, Kaw M, Lee SJ, Patel PR, Golla VK, Bourey RE, Haram PM, Koch LG, Britton SL, Wisløff U, Lee AD, Najjar SM. 2010. Caloric restriction reverses hepatic insulin resistance and steatosis in rats with low aerobic capacity. *Endocrinology*, 151(11):5157–64.
- Britton SL, Koch LG. 2005. Animal models of complex diseases: an initial strategy. *IUBMB life*, 57(9):631–38.
- Bye A, Høydal MA, Catalucci D, Langaas M, Kemi OJ, Beisvag V, Koch LG, Britton SL, Ellingsen Ø, Wisløff U. 2008. Gene expression profiling of skeletal muscle in exercise-trained and sedentary rats with inborn high and low VO<sub>2</sub>max. *Physiological genomics*, 35(3):213–21.



- Crane PD, Pardridge WM, Braun LD, Oldendorf WH. 1983. Kinetics of transport and phosphorylation of 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose in rat brain. *Journal of neurochemistry*, 40(1):160–67.
- DeFronzo RA, Ferrannini E. 1991. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes care*, 14(3):173–94.
- DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. 1979. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *The American journal of physiology*, 237(3):E214–23.
- DeFronzo RA, Tripathy D. 2009. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes care*, 32 Suppl 2:S157–63.
- Dela F, Mikines KJ, von Linstow M, Secher NH, Galbo H. 1992. Effect of training on insulin-mediated glucose uptake in human muscle. *The American journal of physiology*, 263(6 Pt 1):E1134–43.
- DeMarco VG, Johnson MS, Ma L, Pulakat L, Mugerfeld I, Hayden MR, Garro M, Knight W, Britton SL, Koch LG, Sowers JR. 2012. Overweight female rats selectively breed for low aerobic capacity exhibit increased myocardial fibrosis and diastolic dysfunction. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 302(8):H1667–82.
- Doenst T, Han Q, Goodwin GW, Guthrie PH, Taegtmeyer H. 1998. Insulin does not change the intracellular distribution of hexokinase in rat heart. *The American journal of physiology*, 275(4 Pt 1):E558–67.
- Doenst T, Taegtmeyer H. 1998a. Complexities underlying the quantitative determination of myocardial glucose uptake with 2-deoxyglucose. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 30(8):1595–1604.
- Doenst T, Taegtmeyer H. 1998b. Profound underestimation of glucose uptake by [<sup>18</sup>F]2-deoxy-2-fluoroglucose in reperfused rat heart muscle. *Circulation*, 97(24):2454–62.
- Doenst T, Taegtmeyer H. 2000. Kinetic differences and similarities among 3 tracers of myocardial glucose uptake. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 41(3):488–92.
- Fueger PT. 2005. Glucose phosphorylation as a barrier to muscle glucose uptake. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 32(4):314–18.
- Gallagher D, Kelley DE, Yim J, Spence N, Albu J, Boxt L, Pi-Sunyer FX, Heshka S. 2009. Adipose tissue distribution is different in type 2 diabetes. *The American journal of clinical nutrition*, 89(3):807–14.
- Gonzalez NC, Kirkton SD, Howlett RA, Britton SL, Koch LG, Wagner HE, Wagner PD. 2006. Continued divergence in VO<sub>2</sub>max of rats artificially selected for

- running endurance is mediated by greater convective blood O<sub>2</sub> delivery. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 101(5):1288–96.
- Hamel P, Simoneau JA, Lortie G, Boulay MR, Bouchard C. 1986. Heredity and muscle adaptation to endurance training. *Medicine and science in sports and exercise*, 18(6):690–96.
- Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, Gilligan LJ, Koch LG, Britton SL, Najjar SM, Wisløff U. 2009. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular research*, 81(4):723–32.
- Hawley JA. 2004. Exercise as a therapeutic intervention for the prevention and treatment of insulin resistance. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 20(5):383–93.
- Hawley JA, Holloszy JO. 2009. Exercise: it's the real thing! *Nutrition reviews*, 67(3):172–78.
- Hawley JA, Lessard SJ. 2008. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta physiologica* (Oxford, England), 192(1):127–35.
- Henderson KK, Wagner H, Favret F, Britton SL, Koch LG, Wagner PD, Gonzalez NC. 2002. Determinants of maximal O<sub>2</sub> uptake in rats selectively bred for endurance running capacity. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 93(4):1265–74.
- Hernández-Aguilera A, Rull A, Rodríguez-Gallego E, Riera-Borrull M, Luciano-Mateo F, Camps J, Menéndez JA, Joven J. 2013. Mitochondrial dysfunction: a basic mechanism in inflammation-related non-communicable diseases and therapeutic opportunities. *Mediators of inflammation*, 2013:135698.
- Houle-Leroy P, Guderley H, Swallow JG, Garland T. 2003. Artificial selection for high activity favors mighty mini-muscles in house mice. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 284(2):R433–43.
- Howarth KR, Moreau NA, Phillips SM, Gibala MJ. 2009. Coingestion of protein with carbohydrate during recovery from endurance exercise stimulates skeletal muscle protein synthesis in humans. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 106(4):1394–1402.
- Howlett RA, Gonzalez NC, Wagner HE, Fu Z, Britton SL, Koch LG, Wagner PD. 2003. Selected contribution: skeletal muscle capillarity and enzyme activity in rats selectively bred for running endurance. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 94(4):1682–88.
- Howlett RA, Kirkton SD, Gonzalez NC, Wagner HE, Britton SL, Koch LG, Wagner PD. 2009. Peripheral oxygen transport and utilization in rats following continued selective breeding for endurance running capacity. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 106(6):1819–25.

- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Britton SL, Koch LG, Smith GL, Ellingsen Ø. 2007a. Nitric oxide synthase type-1 modulates cardiomyocyte contractility and calcium handling: association with low intrinsic aerobic capacity. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation*, 14(2):319–25.
- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. 2007b. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation*, 14(6):753–60.
- Jacobs AE, Oosterhof A, Veerkamp JH. 1990. 2-Deoxy-D-glucose uptake in cultured human muscle cells. *Biochimica et biophysica acta*, 1051(3):230–36.
- Kashyap SR, DeFronzo RA. 2007. The insulin resistance syndrome: physiological considerations. *Diabetes & vascular disease research : official journal of the International Society of Diabetes and Vascular Disease*, 4(1):13–19.
- Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes J, Skomedal T, Wisløff U, Ellingsen Ø. 2005. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular research*, 67(1):161–72.
- Kirwan JP, Solomon TPJ, Wojta DM, Staten MA, Holloszy JO. 2009. Effects of 7 days of exercise training on insulin sensitivity and responsiveness in type 2 diabetes mellitus. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 297(1):E151–6.
- Koch LG, Britton SL. 2001. Artificial selection for intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. *Physiological genomics*, 5(1):45–52.
- Koch LG, Britton SL. 2008. Development of animal models to test the fundamental basis of gene-environment interactions. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 16 Suppl 3(December):S28–32.
- Koch LG, Britton SL, Wisløff U. 2012. A rat model system to study complex disease risks, fitness, aging, and longevity. *Trends in cardiovascular medicine*, 22(2):29–34.
- Koch LG, Kemi OJ, Qi N, Leng SX, Bijma P, Gilligan LJ, Wilkinson JE, Wisløff H, Høydal MA, Rolim N, Abadir PM, van Grevenhof EM, Smith GL, Burant CF, Ellingsen O, Britton SL, Wisløff U. 2011. Intrinsic aerobic capacity sets a divide for aging and longevity. *Circulation research*, 109(10):1162–72.
- Kodama S, Saito K, Tanaka S, Maki Mi, Yachi Y, Asumi M, Sugawara A, Totsuka K, Shimano H, Ohashi Y, Yamada N, Sone H. 2009. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 301(19):2024–35.
- Kokkinos P, Myers J, Kokkinos JP, Pittaras A, Narayan P, Manolis A, Karasik P, Greenberg M, Papademetriou V, Singh S. 2008. Exercise capacity and mortality in black and white men. *Circulation*, 117(5):614–22.

- Kokkinos P, Myers J, Nylen E, Panagiotakos DB, Manolis A, Pittaras A, Blackman MR, Jacob-Issac R, Faselis C, Abella J, Singh S. 2009. Exercise capacity and all-cause mortality in African American and Caucasian men with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 32(4):623–28.
- Lessard SJ, Rivas DA, Chen Z, Bonen A, Febbraio MA, Reeder DW, Kemp BE, Yaspelkis BB, Hawley JA. 2007. Tissue-specific effects of rosiglitazone and exercise in the treatment of lipid-induced insulin resistance. *Diabetes*, 56(7):1856–64.
- Lessard SJ, Rivas DA, Chen Z, van Denderen BJ, Watt MJ, Koch LG, Britton SL, Kemp BE, Hawley JA. 2009. Impaired skeletal muscle beta-adrenergic activation and lipolysis are associated with whole-body insulin resistance in rats bred for low intrinsic exercise capacity. *Endocrinology*, 150(11):4883–91.
- Lessard SJ, Rivas DA, Stephenson EJ, Yaspelkis BB, Koch LG, Britton SL, Hawley JA. 2011. Exercise training reverses impaired skeletal muscle metabolism induced by artificial selection for low aerobic capacity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 300(1):R175–82.
- Lortie G, Simoneau JA, Hamel P, Boulay MR, Landry F, Bouchard C. 1984. Responses of maximal aerobic power and capacity to aerobic training. *International journal of sports medicine*, 5(5):232–36.
- Maarbjerger SJ, Sylow L, Richter EA. 2011. Current understanding of increased insulin sensitivity after exercise - emerging candidates. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 202(3):323–35.
- Morris EM, Whaley-Connell AT, Thyfault JP, Britton SL, Koch LG, Wei Y, Ibdah JA, Sowers JR. 2009. Low aerobic capacity and high-fat diet contribute to oxidative stress and IRS-1 degradation in the kidney. *American journal of nephrology*, 30(2):112–19.
- Myers J, Prakash M, Froelicher Vi, Do D, Partington S, Atwood JE. 2002. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *The New England journal of medicine*, 346(11):793–801.
- Naples SP, Borengasser SJ, Rector RS, Uptergrove GM, Morris EM, Mikus CR, Koch LG, Britton SL, Ibdah JA, Thyfault JP. 2010. Skeletal muscle mitochondrial and metabolic responses to a high-fat diet in female rats bred for high and low aerobic capacity. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*, 35(2):151–62.
- Noland RC, Thyfault JP, Henes ST, Whitfield BR, Woodlief TL, Evans JR, Lust JA, Britton SL, Koch LG, Dudek RW, Dohm GL, Cortright RN, Lust RM. 2007. Artificial selection for high-capacity endurance running is protective against high-fat diet-induced insulin resistance. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 293(1):E31–41.
- Novak CM, Escande C, Burghardt PR, Zhang M, Barbosa MT, Chini EN, Britton SL, Koch LG, Akil H, Levine JA. 2010. Spontaneous activity, economy of activity,

- and resistance to diet-induced obesity in rats bred for high intrinsic aerobic capacity. *Hormones and behavior*, 58(3):355–67.
- Novak CM, Escande C, Gerber SM, Chini EN, Zhang M, Britton SL, Koch LG, Levine JA. 2009. Endurance capacity, not body size, determines physical activity levels: role of skeletal muscle PEPCK. *PloS one*, 4(6):e5869.
- Petersen KF, Shulman GI. 2002. Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *The American journal of cardiology*, 90(5A):11G–18G.
- Pikosky MA, Gaine PC, Martin WF, Grabarz KC, Ferrando AA, Wolfe RR, Rodriguez NR. 2006. Aerobic exercise training increases skeletal muscle protein turnover in healthy adults at rest. *The Journal of nutrition*, 136(2):379–83.
- Prud'homme D, Bouchard C, Leblanc C, Landry F, Fontaine E. 1984. Sensitivity of maximal aerobic power to training is genotype-dependent. *Medicine and science in sports and exercise*, 16(5):489–93.
- Püschel GP, Kühn H, Kietzmann T, Höhne W. 2011. Taschenlehrbuch Biochemie. 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Regensteiner JG, Sippel J, McFarling ET, Wolfel EE, Hiatt WR. 1995. Effects of non-insulin-dependent diabetes on oxygen consumption during treadmill exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 27(6):875–81.
- Ritchie RH, Leo CH, Qin C, Stephenson EJ, Bowden MA, Buxton KD, Lessard SJ, Rivas DA, Koch LG, Britton SL, Hawley JA, Woodman OL. 2013. Low intrinsic exercise capacity in rats predisposes to age-dependent cardiac remodeling independent of macrovascular function. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 304(5):H729–39.
- Rivas DA, Lessard SJ, Saito M, Friedhuber AM, Koch LG, Britton SL, Yaspelkis BB, Hawley JA. 2011. Low intrinsic running capacity is associated with reduced skeletal muscle substrate oxidation and lower mitochondrial content in white skeletal muscle. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 300(4):R835–43.
- Rosenthal M, Haskell WL, Solomon R, Widstrom A, Reaven GM. 1983. Demonstration of a relationship between level of physical training and insulin-stimulated glucose utilization in normal humans. *Diabetes*, 32(5):408–11.
- Russell RR, Mrus JM, Mommessin JI, Taegtmeier H. 1992. Compartmentation of hexokinase in rat heart. A critical factor for tracer kinetic analysis of myocardial glucose metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 90(5):1972–77.
- Sandri M. 2008. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 23:160–70.
- Siegenthaler W, Blum EB, Hrsg. 2006. Klinische Pathophysiologie. 9. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 89.

- Sokoloff L, Reivich M, Kennedy C, Des Rosiers MH, Patlak CS, Pettigrew KD, Sakurada O, Shinohara M. 1977. The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *Journal of neurochemistry*, 28(5):897–916.
- Stephenson EJ, Lessard SJ, Rivas DA, Watt MJ, Yaspelkis BB, Koch LG, Britton SL, Hawley JA. 2013. Exercise training enhances white adipose tissue metabolism in rats selectively bred for low- or high-endurance running capacity. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 305(3):E429–38.
- Stephenson EJ, Stepto NK, Koch LG, Britton SL, Hawley JA. 2012. Divergent skeletal muscle respiratory capacities in rats artificially selected for high and low running ability: a role for Nor1? *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 113(9):1403–12.
- Swallow JG, Wroblewska AK, Waters RP, Renner KJ, Britton SL, Koch LG. 2010. Phenotypic and evolutionary plasticity of body composition in rats selectively bred for high endurance capacity. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 109(3):778–85.
- Tan S, Li W, Wang J. 2012. Effects of six months of combined aerobic and resistance training for elderly patients with a long history of type 2 diabetes. *Journal of sports science & medicine*, 11(3):495–501.
- Thyfault JP, Rector RS, Uptergrove GM, Borengasser SJ, Morris EM, Wei Y, Laye MJ, Burant CF, Qi NR, Ridenhour SE, Koch LG, Britton SL, Ibdah JA. 2009. Rats selectively bred for low aerobic capacity have reduced hepatic mitochondrial oxidative capacity and susceptibility to hepatic steatosis and injury. *The Journal of physiology*, 587(Pt 8):1805–16.
- Vogel R. 2001. «Übertraining»: Begriffsklärungen, ätiologische Hypothesen, aktuelle Trends und methodische Limiten. *Schweizerische Zeitschrift für «Sportmedizin und Sporttraumatologie»*, 49(4):154–62.
- Wang Y, Wisloff U, Kemi OJ. 2010. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. *Physiological research*, 59(5):633–44.
- Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. 2001. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO(2 max) and cardiac hypertrophy. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 280(3):H1301–10.
- Wisløff U, Najjar SM, Ellingsen O, Haram PM, Swoap S, Al-Share Q, Fernström M, Rezaei K, Lee SJ, Koch LG, Britton SL. 2005. Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. *Science (New York, N.Y.)*, 307(5708):418–20.

## 9 Anhang

### 9.1 Lebenslauf

#### Persönliche Daten

Name	Annika Molis
Geburtsdatum	19. Juli 1987
Geburtsort	Sondershausen
Familienstand	ledig

#### Berufliche Tätigkeit

12/2013 - dato	Ärztin in Weiterbildung, Klinik für Neurologie und neurologische Intensivtherapie, Klinikum Altenburger Land
----------------	--

#### Hochschulstudium

10/2006 - 05/2013	Studium der Humanmedizin Friedrich-Schiller-Universität Jena
05/2013	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
02/2012 - 01/2013	Praktisches Jahr
05/2011 - 01/2016	Dissertation in der Klinik für Herz-Thorax Chirurgie, Universitätsklinikum Jena, Titel: „ <i>Die intrinsische körperliche Leistungsfähigkeit beeinflusst die Wirkung von Ausdauertraining auf die Insulinempfindlichkeit</i> “, Doktorvater: Prof. Dr. med. Torsten Doenst
08/2008	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

#### Schulausbildung

06/2006	Abitur am Geschwister-Scholl-Gymnasium Sondershausen
---------	---

Jena, den 25.01.2016

## 9.2 Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit haben bisher zu folgenden Veröffentlichungen geführt:

### Vortrag:

Molis A. 2012. Hyperinsulinämie, euglykämie Klemme - Beeinflusst die Nutzung von [ $^{14}\text{C}$ ]2-Deoxyglukose das Ergebnis bei der Bestimmung der Insulinempfindlichkeit in einzelnen Organen? Symposium - Von Herzinsuffizienz und Mitochondrien (Jena).

### Posterpräsentation:

Molis A, Schwarzer M, Schrepper A, Koch LG, Britton SL, Doenst T. 2012. Hyperinsulinemic euglycemic clamp - Does the use of [ $^{14}\text{C}$ ]2-deoxyglukose affect the ability to assess isolated organ insulin sensitivity? SHVM - Society for Heart and Vascular Metabolism (Oxford).

Schwarzer M, Molis A, Schrepper A, Koch LG, Britton SL, Doenst T. 2012. Genetic predisposition affects the influence of exercise on insulin sensitivity. SHVM - Society for Heart and Vascular Metabolism (Oxford).



### 9.3 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Forschungslabor der Herz-Thorax Chirurgie des Universitätsklinikums Jena angefertigt. Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die an der Entstehung meiner Dissertation mitgewirkt haben.

In erster Linie gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Torsten Doenst für die Überlassung des Promotionsprojektes und die Betreuung während der Zeit meiner Promotionsarbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Michael Schwarzer. Ohne seine engagierte Betreuung meiner experimentellen Arbeit sowie seine Unterstützung bei der Auswertung und Interpretation der Daten wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Andrea Schrepper danke ich für ihren Überblick und Durchblick im Labor und die Durchführung der Echokardiographie. Ebenso danke ich Luise Kaiser, die mir stets freundschaftlich und hilfsbereit mit ihrem Wissen und ihrer Erfahrung im Labor zur Seite stand. Sehr dankbar bin ich auch Kathrin Hornung für die Unterstützung beim Laufbandtraining und der Klemme. Geteiltes Leid ist halbes Leid, in diesem Sinne auch ein großes Dankeschön an Sebastian Freiburger.

Meinen Freunden Maren Werner, Katharina Hoppe und meiner Schwester Katja Molis, die mir stets mit Ratschlägen und Korrekturarbeiten, aber vor allem mit ihrer Freundschaft zur Seite standen. Ich danke sehr meinem Freund Alexander Schulze für seine unglaubliche Geduld und Liebe.

Und nicht zuletzt gilt ein großer Dank meinen Eltern Sylvia und Dirk Molis, die mir mein Studium und die Promotion ermöglichten und jederzeit mit Rat und Tat an meiner Seite standen.

## 9.4 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,  
dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Herr Prof. Dr. med. Torsten Doenst, Herr Dr. rer. nat. Michael Schwarzer und Frau Dr. rer. nat. Andrea Schrepper,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 25.01.2016

---

Ort, Datum

---

Unterschrift